

## University of Groningen

### Glucose-homeostase bij diabetes mellitus

Oosten, Hessel Rienk

**IMPORTANT NOTE:** You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

1988

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Oosten, H. R. (1988). *Glucose-homeostase bij diabetes mellitus*. [, Rijksuniversiteit Groningen]. [S.n.].

**Copyright**

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

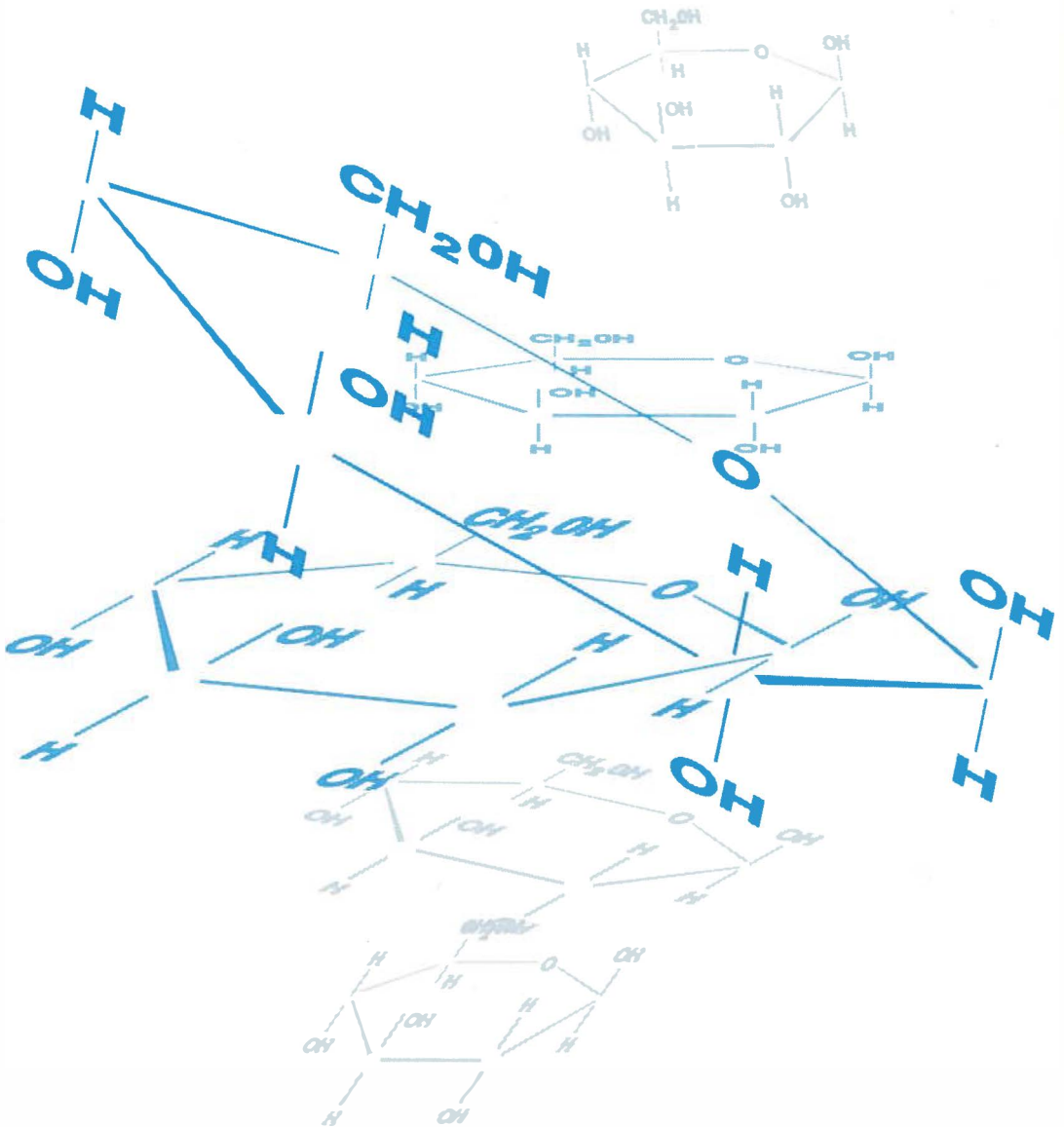
**Take-down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

*Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.*

H.R. OOSTEN

# GLUCOSE-HOMEOSTASE BIJ DIABETES MELLITUS



# **GLUCOSE-HOMEOSTASE**

## **BIJ DIABETES MELLITUS**

Zetwerk, lay-out en opmaak : Computekst tekstverwerking, Groningen  
d.m.v. Apple Macintosh Plus en LaserWriter Plus  
Druk : Krips Repro, Meppel

ISBN nr.: 90-9002278-3



# Stellingen

1. Indien (bij een patiënt met type I diabetes mellitus) een post-receptordefect aantoonbaar is, bestaat er een vergroting van het verdelingsvolume van glucose ten opzichte van een situatie zonder een aantoonbaar post-receptordefect.
2. Een vergroot verdelingsvolume van glucose duidt op de aanwezigheid van vrije intracellulaire glucose.
3. De invloed van het massaffect van glucose op de glucoseconcentratie in het bloed is onvoldoende bekend; hetzelfde geldt voor de invloed van het massaffect op de diabetesregulatie.
4. Naast de term "insulineresistentie" dient de term "glucoseresistentie" te worden ingevoerd.
5. Er bestaat een (negatief) verband tussen de hoogte van de bloeddruk en de mate van insulinegevoeligheid (N Engl J Med 1987; 317: 350-357).
6. De toekomstige behandeling van de door chronische nierziekten veroorzaakte bloedarmoede met recombinant erythropoëetine zal de indicatiestelling voor niertransplantatie niet in belangrijke mate beïnvloeden.
7. Bij verdenking op een (niet acute) bedreigende ziekte in het bovenste deel van het spijsverteringsstelsel is in eerste instantie een röntgenologische analyse te verkiezen boven endoscopisch onderzoek.
8. De stof flumazenil is een belangrijke aanwinst zowel voor de diagnostiek als voor de behandeling van intoxicaties met benzodiazepinen.
9. Dialysevloeistof voor de behandeling van patiënten met nierinsufficiëntie dient, overeenkomstig vloeistoffen bestemd voor parenterale toediening, steriel en pyrogeenvrij te zijn.
10. Voor het optimaal en aan de eisen van de tijd aangepast bedrijven van (poli)klinische diabeteszorg is een diabetesverpleegkundige noodzakelijk.
11. Slechts weinig artsen dragen de patholoog-anatoom een warm hart toe.
12. Een sterk argument voor de stelling dat er vaak overbodige stellingen zijn, is de stelling dat er vaak overbodige stellingen zijn (zoals bijvoorbeeld deze stelling).

Stellingen behorend bij het proefschrift van Hessel Rien Oosten

## GLUCOSE-HOMEOSTASE BIJ DIABETES MELLITUS

Groningen 1988



RIJKSUNIVERSITEIT GRONINGEN

# **GLUCOSE-HOMEOSTASE BIJ DIABETES MELLITUS**

PROEFSCHRIFT

ter verkrijging van het doctoraat in de Geneeskunde  
aan de Rijksuniversiteit Groningen  
op gezag van de  
Rector Magnificus Dr. S.K. Kuipers  
in het openbaar te verdedigen op

woensdag 6 juli 1988 des namiddags te 4.00 uur

door

**Hessel Rienk Oosten**  
geboren te Leeuwarden

**1e Promotor:** Prof. Dr. H. Doorenbos  
**2e Promotor:** Prof. Dr. W.D. Reitsma

**Referent:** Dr. W.J. Sluiter

# INHOUD.

<b>Inleiding.</b>	1
<b>Hoofdstuk 1.</b> Literatuuroverzicht: Verdelingsvolume van glucose.	5
<b>Hoofdstuk 2.</b> Literatuuroverzicht: Glucose metabolisme.	13
<b>Hoofdstuk 3.</b> Literatuuroverzicht: Contraregulatie.	33
<b>Hoofdstuk 4.</b> Verdelingsvolume van glucose.	49
<b>Hoofdstuk 5.</b> Vormen van glucoseverwerking.	61
<b>Hoofdstuk 6.</b> Theoretische integratie van veranderingen in glucoseverdelingsvolume en mate van glucose (on)afhankelijkheid van het glucosemetabolisme.	75
<b>Hoofdstuk 7.</b> Proefopstelling.	91
<b>Hoofdstuk 8.</b> Resultaten: Algemene resultaten.	101
<b>Hoofdstuk 9.</b> Resultaten: Resultaten van glucose afhankelijk en glucose onafhankelijk glucoseverbruik.	111
<b>Hoofdstuk 10.</b> Resultaten: Bepalingsresultaten van het glucoseverdelingsvolume.	121
<b>Hoofdstuk 11.</b> Resultaten: Indeling in groepen.	127
<b>Hoofdstuk 12.</b> Resultaten: Aspecten van contraregulatie.	141
<b>Samenvatting/Summary.</b>	159
<b>Appendix.</b>	163
<b>Publicaties.</b>	165
<b>Literatuur.</b>	167



## VOORWOORD.

De voltooiing van dit proefschrift geeft mij de gelegenheid dank te betuigen aan de navolgende personen of instanties die aan de tot standkoming ervan hebben bijgedragen.

Prof. dr. H. Doorenbos en Prof. dr. W.D. Reitsma, mijn beide promotores, hebben mij bij deze "proefschriftjes" symbolisch de pen en het schrift verstrekt.

Professor Doorenbos dank ik voor zijn stimulerende houding gedurende het onderzoek, voor zijn bijdragen aan dit proefschrift alsmede voor mijn opleiding tot endocrinoloog.

Professor Reitsma dank ik voor zijn aandeel in mijn opleiding tot internist, voor zijn persoonlijke inzet en voor zijn altijd leerzame (en onmisbare) kritiek die de kwaliteit van het proefschrift ten goede kwam.

Dr. W.J. Sluiter, mijn referent, is de "meester" geweest die mij uiteindelijk alle "proefschriftlessen" heeft gegeven. Als privé-docent heeft hij vanaf de eerste letter de opbouw van dit geschrift mede gestuurd en richting gegeven. Zijn lessen, van statistiek tot glucosemetabolisme, zijn van onschatbare waarde geweest en zonder zijn bijdragen was dit proefschrift waarschijnlijk niet in de huidige vorm tot stand gekomen. Mijn "handschrift" is, naar ik hoop, in de loop van de jaren enigszins op het zijne gaan lijken.

Prof. drs. J.H. Scholten, mijn vroegere chef de clinique, dank ik voor de hartelijke manier waarop hij mij de weg naar de opleiding tot internist heeft gewezen.

Prof. dr. E. Mandema, mijn opleider tot internist, dank ik voor de faciliteiten die hij heeft geschapen om uit Groningen te kunnen vertrekken met een goed gevulde buidel algemeen internistische vaardigheden.

Dr. W.E. de Lange, drs. J.J. v. Doormaal, drs. A.A. Alberda en drs. R.P.F. Dullaart, mijn endocrinologische collega's, dank ik voor de zeer plezierige samenwerking en voor de gelegenheid die zij mij hebben geboden om dit proefschrift op tijd te voltooien.

Prof. dr. M.R. Halie en zijn staf (in het bijzonder drs. G.M.H. Woolthuis), mijn tijdelijke hematologische collega's, dank ik voor de verstrekte bijscholing in de hematologie.

Dr. S.C. Derksen, mijn pleegvader, dank ik (onder andere) voor het kritisch beoordelen en zonodig corrigeren van het Nederlands in dit proefschrift.

De hormoonbepalingen werden verricht op de laboratoria van Dr. W.J. Sluiter (de heer W. de Jonge), dr. F.A.J. Muskiet en dr. J.J. Pratt. De tekeningen werden vervaardigd door de heer J. Brouwer, secretariële werkzaamheden werden verricht door mevrouw A. Boer en mevrouw F. Nienhuis en een deel van de literatuur werd verzameld door de heer B. Schaalma. Subsidie op het onderzoek werd verkregen van de werkgemeenschap koolhydraten, vetten en eiwitten van "Fungo".

De internisten van het Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis uit Nijmegen, mijn huidige collega's, dank ik voor hun souplesse met betrekking tot mijn vestigingsdatum in Nijmegen, zodat de internistische praktijk aldaar kon worden aangevangen mét extra hematologische vakkennis en zonder de zorgen van een nog niet voltooid proefschrift.

Zonder de hulp van Margreet, mijn lieve vrouw, was dit boek er niet geweest.





## INLEIDING.

In de praktijk blijkt dat er grote verschillen zijn in het gemak waarmee de glucosespiegel van patiënten met type I diabetes mellitus kan worden gereguleerd. Soms kan bij de ene patiënt een goede regulatie worden bereikt met slechts één injectie langwerkende insuline terwijl bij de andere een behandeling met continue subcutane insuline infusie minder resultaat oplevert.

Er kunnen bij de beoordeling van de kwaliteit van de bloedsuikerregulatie verschillende criteria worden aangelegd. Alhoewel moeilijk meetbaar, zijn klachten van de patiënt de belangrijkste maat voor de kwaliteit van de regulatie. Op langere termijn zijn diabetische complicaties een afspiegeling van de kwaliteit van de regulatie. Men kan ook de aandacht meer richten op de gemiddelde hoogte van de bloedglucosespiegel of op het gehalte aan geglycosyleerd hemoglobine. De optredende variatie in de bloedglucosespiegel kan echter ook als een criterium worden genomen. Deze variatie lijkt bij patiënten, die overigens overeenkomstige karakteristieken vertonen, sterk te kunnen verschillen.

De aanleiding voor het hierna te beschrijven onderzoek was het gebrek aan inzicht in mechanismen die de oorzaak kunnen zijn van (ongewenste) variatie in de bloedglucosespiegels. Hoewel in de literatuur nogal wat oorzaken te vinden zijn, blijkt dat desondanks bij veel patiënten een optredend regulatieprobleem toch niet, of althans niet voldoende kan worden verklaard. Aangezien alle variaties in het bloedglucosegehalte uiteindelijk lopen via de twee basisprocessen van het glucosemetabolisme, te weten glucoseproductie en glucoseutilisatie, werd besloten daarop de aandacht te richten. Deze parameters worden zowel hormonaal als fysisch-chemisch (door de glucosespiegel zelf) gereguleerd. De glucosespiegel in het bloed is ten gevolge van de wisselende omstandigheden waarin de diabetespatiënt zich bevindt, permanent aan verandering onderhevig. Hiermee rekening houdende werd een experiment ontworpen dat informatie zou kunnen verschaffen over de beïnvloeding van het glucosemetabolisme door bloedglucosespiegels van verschillende hoogte. In de experimentele opstelling werden derhalve metingen gedaan bij zowel stabiele (maar verschillende) bloedglucoseniveaus als bij een continu veranderende bloedglucoseconcentratie.

Glucoseproductie en glucoseutilisatie werden niet gemeten als absolute hoeveelheden zoals gebruikelijk is, maar werden bepaald als netto functies van de glucosespiegel in het bloed (glucose behoefte). De termen glucose afhankelijke- en/of glucose onafhankelijke glucosebehoefte worden in dit verband geïntroduceerd.

Er is betrekkelijk weinig onderzoek gedaan naar het glucosemetabolisme onder omstandigheden waarin de glucosespiegel niet in evenwicht verkeert, waarschijnlijk omdat het in een dergelijke situatie niet gemakkelijk is om betrouwbaar geïnformeerd te zijn over het (functionele) verdelingsvolume van glucose. De gangbare methoden waarbij gebruik gemaakt wordt van (wel of niet radioactieve) "tracers", brengen soms interpretatieproblemen met zich mee. Mede daarom werd voor de bepaling van het verdelingsvolume van glucose een nieuwe, eenvoudige toepasbare, methode ontwikkeld en in het onderzoek toegepast.

De stabiliserende werking van de bij de contraregulatie betrokken hormonen werd tevens onderzocht in relatie tot een veranderende glucosespiegel. De hoogte van de bloedglucosespiegel als drempel ("trigger") voor hormoonstijging werd bepaald.

Het onderzoek werd verricht bij glucose- en insulinespiegels op een fysiologisch niveau, zodat de resultaten ook relevant geacht kunnen worden voor de dagelijkse situatie waarin de patiënt met type I diabetes mellitus verkeert.

Hoofdstuk 1.

VERDELINGSVOLUME VAN GLUCOSE.

Dit hoofdstuk is ingedeeld in:

- 1. Begrip, modellen en grootte.
- 2. Overnaat insuline.
- 3. Verminderde glucoseutilisatie.
- 4. Conclusie.

1. BEGRIP, MODELLEN EN GROOTTE.

Het verdelingsvolume van glucose is gelijk aan de hoeveelheid vloeistof die nodig is om de totale hoeveelheid aanwezige vrije (ongebonden) glucose op te lossen tot een concentratie die gelijk is aan de concentratie op de plaats van meting. Is er gemeten in bloed dan staat het verdelingsvolume in liter-equivalenten bloed. Het is een virtuele, niet anatomische ruimte. Het gewicht van de in het verdelingsvolume opgeloste glucose is de glucosepool. Het is noodzakelijk bij alle vormen van onderzoek naar glucose-metabolisme in een non-steady-state-situatie het verdelingsvolume van glucose te kennen om de grootte van absolute en relatieve veranderingen in glucoseproductie en glucoseutilisatie te berekenen.

De grootte van het verdelingsvolume van glucose bij mens en dier wordt zéér verschillend opgegeven. Dit lijkt het gevolg van zowel reële verschillen als van verschillen in bepalingsmethoden. Dit is uiteraard storend omdat het tot verkeerde conclusies met betrekking tot metabole shifts kan leiden. Diverse auteurs gaan uit van dezelfde, onveranderlijke grootte van het glucoseverdelingsvolume. Een betrekkelijk uitvoerig overzicht over de problematiek van de grootte van het verdelingsvolume van glucose verscheen enkele jaren geleden<sup>1</sup>. Het onderstaande overzicht met glucoseverdelingsvolumes (in % van het lichaamsgewicht) is ten dele hieruit afkomstig.

Schreeve <sup>2</sup>	24	Pollycove <sup>3</sup>	33
Manougian <sup>4</sup>	32	Forbath <sup>5</sup>	28
Paul <sup>6</sup>	23	Reichard <sup>7</sup>	35
Kreisberg <sup>8</sup>	36	Brech <sup>9</sup>	37
Cahill <sup>10</sup>	32	Searle <sup>11</sup>	32
Searle <sup>12</sup>	25	Shames <sup>13</sup>	33
Long <sup>14</sup>	20	Strisower <sup>15</sup>	40-50

In een aantal non-steady-state-situaties blijkt het werken met een verdelingsvolume dat wordt geacht uit één compartiment te bestaan, niet goed te voldoen. De fout die gemaakt wordt bij een één-compartimentsmodel is overigens in specifieke situaties betrekkelijk gering (ongeveer 7%)<sup>16</sup>. Bij ingewikkelder modellen worden twee of meer compartimenten verondersteld. Een eenvoudiger oplossing dan het gebruiken van een veel-compartimentsmodel is het aannemen van een "poolfraction". Een "poolfraction"

is een percentage van het totale volume dat verondersteld wordt snelle veranderingen van de glucoseconcentratie in het bloed te volgen met een verwaarloosbare equilibratietijd. Het is een correctie van het "steady-state" glucoseverdelingsvolume voor de "non-steady-state"-situatie. De correctie is dus noodzakelijk door het disequilibrium dat ontstaat tussen de diverse compartimenten. Bij een één-compartimentsmodel gaat men uit van een volume  $V$ , waarin sprake is van non-uniformiteit van de glucoseverdeling. Men veronderstelt dat er wel een uniforme verdeling is in een kleiner deel van dat volume, genaamd  $pV$ . De poolfraction  $p$  is een constante waarvan proefondervindelijk bij de mens is gebleken dat een grootte van 50-75% het beste voldoet<sup>17,18,19,20</sup>. In zijn veel aangehaalde "non-steady-state-equations" (een mathematische benadering van een één-compartimentsmodel) stelt Steele<sup>21,22</sup> voor om 77% te nemen bij de bepaling van het verdelingsvolume met behulp van een continue infusie van tracer en om 150% te nemen bij de bepaling van het volume met een bolus van tracer terwijl Radziuk<sup>20</sup> bij een poging tot validatie op 65% komt (bij de methode met continue infusie van "tracer"). Wanneer wordt uitgegaan van de non-steady-state-equations van Steele in hun meest oorspronkelijke vorm neemt men een glucoseverdelingsvolume van 280 ml/kg en een pool fraction van 0.65. Dit komt neer op 19.6 liter voor het totale volume en 12.7 liter voor een snel (uitwisselend) volume (bij een persoon van 70 kg). Het (vaste) snel uitwisselende verdelingsvolume van glucose dat door veel andere auteurs wordt gebruikt, is  $0.65 \cdot 270 \text{ ml/kg}$ <sup>23</sup> (voor een persoon van 70 kg dus ongeveer 12.3 l.). De grootte van de endogene glucosepool in basale omstandigheden is bij een gewicht van 70 kg dus  $\pm 19 \text{ g}$ . De modificatie van De Bodo<sup>24</sup> verscheen pas vele jaren na de publicatie van de "Steele equations". Hierin wordt er arbitrair vanuit gegaan dat 50% van de glucosepool betrokken is bij (snelle) glucoseuitwisseling (13% van het lichaamsvolume). Hoewel dit in de praktijk voldoet is hierbij weer een noodzakelijke veronderstelling dat glucose alleen uit het snel uitwisselende compartiment verdwijnt. Het is duidelijk dat bij een "steady state" (eigenlijk dynamische "steady state") de problematiek van het verdelingsvolume vervalst.

De poolfraction blijkt ook per species te verschillen: zo wordt voor de hond meestal 65-85% genomen, terwijl bijvoorbeeld voor de laboratoriumrat 50% het beste lijkt te zijn<sup>25</sup>. (Mede)-determinanten van de "poolfraction" zijn waarschijnlijk fysische factoren zoals "cardiac output", circulatie tijd en de absolute grootte van het glucoseverdelingsvolume. Een belangrijk deel van de "poolfraction" wordt gevormd door het bloed en de rest van het extracellulaire water. De verdeling van glucose in het extracellulaire water is namelijk zeer snel, zeker in verhouding tot de opname ervan in de cel. Dit fenomeen geldt vrijwel zonder uitzondering voor alle kleine moleculen<sup>26</sup>. Van sorbitol is bekend dat equilibratie van deze suiker tussen de bloedbaan en het interstitiële water binnen 1 minuut optreedt<sup>27</sup>. Insuline heeft geen invloed op de diffusie van glucose in het extracellulaire water<sup>28</sup>.

Tot voor kort waren er slechts twee validatiestudies verricht van het één-compartimentmodel van Steele. Beide studies werden uitgevoerd bij honden. In de ene<sup>29</sup> komt men tot 20% als de beste poolfraction (eliminatie van de glucoseproductie door evisceratie van honden), terwijl men in de andere<sup>30</sup> tot 75% komt (infusie van suprafysiologische hoeveelheden glucose). Hoewel er dus nogal wat problemen zijn met de bepaling lijkt 75 het meest praktische percentage. Bekritiseerbaar is dat de hond dus vrijwel steeds het proefdier is in validatiestudies die de bruikbaarheid van de gemeten verde-

lingsvolumes van glucose bij de mens moeten aantonen<sup>19,20,30</sup>. Verder gaat men in validatiestudies uit van de assumptie dat het bij de experimenten gebruikte inuline dezelfde verdelingsruimte heeft als glucose. Van het verdelingsvolume van inuline wordt verondersteld dat het gelijk is aan het volume van het extracellulaire water. Waarschijnlijk is de inulineruimte echter lager dan die van het extracellulaire water zoals blijkt uit de volgende getallen. De inulineverdelingsruimte in de hond is ongeveer 20-25% van het lichaamsgewicht. De inulineverdelingsruimte bij de mens is 15.7% van het lichaamsgewicht<sup>31</sup>. Harrison geeft voor een 70 kg standaard man 17 kg extracellulair water op (24% van het lichaamsgewicht, bepalingmethode wordt niet aangegeven)<sup>32</sup>. Ook hier verschillen mens en dier kennelijk aanzienlijk. Het glucoseverdelingsvolume van 27% dat door Steele werd gevonden, is slechts weinig groter dan het veronderstelde volume van extracellulair water en daaruit werd vroeger dan ook de conclusie getrokken dat de totale "glucosepool" in het lichaam bestaat uit de opgeloste glucose in bloed, interstitiële vloeistof en vrije intracellulaire glucose van de lever.

Er is reeds naar voren gekomen dat veel auteurs veronderstellen dat de verdelingsruimte van glucose gelijk is aan die van het extracellulaire water. Dit concept maakt noodzakelijk dat er bij de celmembraan als het ware een belemmering is voor een vrije verdeling van glucose over de intracellulaire ruimte (intracellulair water: 40% van het lichaamsgewicht). Algemeen wordt inderdaad geaccepteerd dat het glucosetransport over de celmembraan de "rate limiting step" is bij de glucoseutilisatie (bij fysiologische insuline- en glucosespiegels)<sup>33</sup>. Indien niet de celmembraan de "rate limiting step" in het glucosetransport zou zijn maar een andere biochemische stap in de intracellulaire glucoseverwerking (bijvoorbeeld de phosphorylering van glucose) dan is het voorstelbaar dat er ook vrije glucose in de cel aanwezig kan zijn. Deze glucose, die vrij uitwisselbaar is over de celmembraan, is dan deelachtig geworden aan het glucoseverdelingsvolume dat nu groter is dan in de oorspronkelijke situatie met het membraantransport van glucose als "rate limiting step". Men spreekt ook wel over "apparent volume". Indien deze situatie bestaat, dan zijn er twee mogelijkheden. Ofwel er is een in principe normale intracellulaire verwerkingsmogelijkheid voor glucose maar de aanvoer van glucose over de celmembraan is te hoog, ofwel de aanvoer over de celmembraan is normaal maar de intracellulaire verwerking is te laag. In beide gevallen echter is de intracellulaire verwerking relatief te gering ten opzichte van het glucosetransport over de celmembraan. Er zijn in de literatuur mechanismen en (patho)-fysiologische situaties beschreven waarin het bovenstaande aannemelijk wordt gemaakt. In vrijwel alle gevallen betreft het extreme situaties of ziekte toestanden. In normale situaties zou vrije intracellulaire glucose vrijwel niet voorkomen<sup>34</sup>. Daardoor kan het verdelingsvolume van glucose in die situatie dan ook niet (pathologisch) vergroot zijn. Er is in dit concept dus een direct verband tussen de (eventuele) aanwezigheid van een vergroot glucoseverdelingsvolume en het aanwezig zijn van vrije intracellulaire glucose.

## 2. OVERMAAT INSULINE.

Er zijn diverse aanwijzingen dat het verdelingsvolume van glucose in positieve zin afhankelijk is van de insulineconcentratie<sup>28,35</sup>. Door enkele auteurs echter worden effecten van de insulineconcentratie op het verdelingsvolume van glucose niet gevonden<sup>36</sup>.

In vitro is aangetoond dat, indien suikers (waaronder glucose) onder invloed van insuline sneller over de celmembraan worden getransporteerd dan de capaciteit van de cellulaire mechanismen voor verwerking groot is, dit accumulatie van vrije glucose in het cytoplasma tot gevolg kan hebben<sup>37</sup>. Ook in hersenweefsel (van de rat) is aangetoond dat insuline het verdelingsvolume van 3-O-methylglucose (een glucose analoog dat op dezelfde manier als glucose wordt getransporteerd maar niet verder wordt gemetaboliseerd) doet toenemen (6-15%)<sup>38</sup>. Door middel van computersimulaties liet Bergman zien dat onder invloed van insulinstimulatie de intracellulaire glucoseconcentratie oploopt<sup>39</sup>. Een ander argument dat glucose in de cel een relatief hoge concentratie zou kunnen bereiken is de waarneming dat bijvoorbeeld 3-O-methyl-glucose een groter verdelingsvolume heeft dan sorbitol (dat zonder insuline geen entree heeft tot de cel). Sorbitol wordt om die reden dan ook wel gebruikt voor meting van het extracellulaire volume. Na stimulatie met insuline gelukt het soms om 70-80% van het intracellulaire volume deelachtig te laten worden aan het verdelingsvolume van 3-O-methyl-glucose<sup>28</sup>. In het geperfundeerde geïsoleerde rattehart vonden Park et al.<sup>28</sup> een vrije intracellulaire glucoseconcentratie van 0 % van die in het perfusie medium, maar na stimulatie met insuline gedurende 15 minuten steeg dit naar 32%. Het glucoseverdelingsvolume steeg van  $\pm 400$  naar  $\pm 550$   $\mu\text{l/g}$  weefsel. In aanwezigheid van insuline was er dus een duidelijke accumulatie van vrije glucose en trad er een plateau op in de glucoseutilisatie bij een concentratie van 300 mg/dl glucose in het perfusaat. Dit kon verklaard worden door aan te nemen dat er een nieuwe en andere "rate limiting step" was ontstaan, namelijk in de keten van de intracellulaire glucosephosphorylering. Tevoren was het celmembraantransport van glucose nog de "rate limiting step". Zonder insuline trad er pas plateauvorming op in de glucoseutilisatie bij 600 mg/dl en werd er nauwelijks intracellulaire glucose gevonden. Duidelijk was ook dat er bij de hoogste glucoseconcentraties dus onafhankelijkheid was ontstaan van de glucoseopname voor insulinstimulatie. Over de membraan getransporteerde glucose kan zowel verdwijnen door glucoseoxidatie als door glycogeenopslag. Bij type I diabetes zijn beide processen gestoord<sup>40</sup>. Accumulatie van vrije glucose is daar dus nog een reële derde mogelijkheid voor de (dan schijnbare) metabolisering van glucose. Een methode om in vivo intracellulaire glucose en glucose-6-phosfaat te meten (berekenen) is dat men eerst de extracellulaire ruimte bepaalt met bijvoorbeeld <sup>3</sup>H-insuline. De concentratie van intracellulaire glucose in spierwater kan dan berekend worden:

$$C_i = \frac{C_s - C_p * E}{0.79 - E}$$

waarbij  $C_i$  = mmol intracellulaire glucose/l celwater,  $C_s$  = mmol spierglucose/kg nat gewicht,  $C_p$  = mmol plasmaglucose/l (perfusaat) plasmawater,  $E$  = extracellulaire ruimte (ml/g nat gewicht) en 0.79 = het watergehalte van de doorstroomde spier (ml/g)<sup>41</sup>.



De concentratie glucose-6-phosphaat wordt als volgt berekend:  $C_m/(0.79 - E)$  waarbij  $C_m$  = glucose-6-phosphaat in mmol/kg nat gewicht.

Richter et al.<sup>42</sup> konden aantonen dat er in langzaam contraherende rattespier accumulatie plaats heeft van vrije intracellulaire glucose in aanwezigheid van een hoge insulineconcentratie, zowel bij gezonde als bij diabetische (rustende) ratten. De concentratie bedroeg ongeveer 1.27 mmol/l. Er trad geen accumulatie op van glucose-6-phosphaat. Inspanning deed deze accumulatie teniet. Dit betekent dat bij hoge insulineconcentraties in dit type spier het glucosetransport niet de "rate limiting step" is bij de glucoseopname en dat na inspanning (die de glycogeen voorraad doet afnemen) het glucosetransport wel weer "rate limiting" wordt. Bekijkt men dus de "overall"  $K_m$  van de glucoseopname dan wordt deze wisselend bepaald door of het transport of de verwerking al naar gelang de omstandigheden.

Een van de meest overtuigende studies waarin een vergroting van het verdelingsvolume onder invloed van insuline wordt aangetoond is die van Ferrannini et al.<sup>35</sup>. Zij vonden bij gezonde vrijwilligers uitgaande van een basale toestand met een insulinespiegel van 14 mE/l bij euglycemie onder invloed van een insulineinfusie van 1 mg/kg/min =  $\pm 40$  mE/m<sup>2</sup>/min) leidende tot een insulinespiegel van 110 mE/l het navolgende resultaat. Er was een toeneming in het verdelingsvolume van glucose van 260 ml/kg (26% van het lichaamsgewicht) naar  $\pm 330$  ml/kg (33% van het lichaamsgewicht). Dit komt voor een persoon van 72 kg (zoals in het aangehaalde artikel) neer op een toeneming van  $\pm 5$  liter. De auteurs gingen uit van een 3-compartimentenmodel: er was een snel uitwisselend compartiment (plasma), een snel uitwisselend, van insuline onafhankelijk compartiment (hersenen, splanchnicusgebied, erythrocyten, niermerg) en een langzaam uitwisselend insuline afhankelijk compartiment (merendeels spierweefsel).

Wij berekenden de concentraties van vrije glucose in deze 3 compartimenten uit de studie van Ferrannini:

compartiment	basaal	met insuline stimulatie
plasma	88	88 mg/dl
ins. onafh.	76	51 mg/dl
ins. afh.	19	48 mg/dl

Er werd van uit gegaan dat het van insuline onafhankelijke compartiment glucose "verliest" met een constante snelheid van 1.6 mg/kg/min. Het is dus zeer wel mogelijk dat bij type I diabetes patiënten die insulineresistentie hebben (onder andere op basis van een post-receptordefect) het verdelingsvolume onder invloed van insuline nog verder zal toenemen. Zéér opvallend was dat de auteurs een duidelijke relatie vonden tussen de toeneming van de grootte van de langzaam uitwisselende pool (dit was de pool die vrijwel geheel de toeneming in het verdelingsvolume veroorzaakte) en de snelheid van de glucoseverdwijning. Dit betekent dat er een relatie is tussen de volumegrootte en de insulinegevoeligheid. Bij de (gezonde) proefpersonen kon berekend worden dat de volumetoeneming begon bij een glucoseutilisatie snelheid die groter was dan 6 mg/kg/min. Ongeveer 90 mg glucose per kg lichaamsgewicht was zo gesequestreerd en dit betekent dat 14% van de geïnfundeerde glucose weliswaar onderhevig was aan

glucoseopname ("disappearance") maar niet aan glucoseutilisatie (die weer leidt tot glucoseoxidatie of glucoseopslag). Van belang leek dat deze gegevens onverenigbaar waren met de meest aangehaalde studie ter validatie van de Steele equations namelijk die van Radziuk<sup>30</sup>. De waarde van de laatste studie werd dan ook ter discussie gesteld. Nog enkele andere auteurs<sup>24,43,44,45</sup> komen op een groter verdelingsvolume dan meestal in de literatuur wordt gebruikt (Steele).

### 3. VERMINDERDE GLUCOSEUTILISATIE.

Ook voor een relatief beperkte cellulaire glucoseutilisatie als oorzaak van een vergroot glucoseverdelingsvolume (met vrije intracellulaire glucose) zijn er aanwijzingen. Een (partieel) phosphoryleringsblok in de glycolyse zou deze abnormale situatie kunnen veroorzaken. Hexokinase wordt geremd door z'n product glucose-6-fosfaat<sup>46</sup>. Vasten is genoemd als oorzaak van een phosphoryleringsblok<sup>47</sup>. Ook adrenaline kan leiden tot een phosphoryleringsblok doordat het de spiegel van glucose-6-fosfaat verhoogt (door glycogenolyse)<sup>48</sup>. In al deze gevallen is er naast de beschreven afwijking dan ook insulineresistentie. Men kan trachten dit te behandelen (meestal slechts met beperkt succes) door met insuline te proberen de glucoseutilisatie te laten toenemen. Indien zoiets gelukt, behoeft dit niet noodzakelijkerwijs te duiden op een reël toegenomen glycolyse of glycogeensynthese maar zou er ook (tijdelijk) sprake kunnen zijn van accumulatie van vrije intracellulaire glucose. Bij ziekten waarvan bekend is dat er een post-receptordefect in de glucoseverwerking bij kan voorkomen, zijn voor dit mechanisme al bewijzen gevonden. Na de aanvang van hemodialyse bij uremische patiënten (waarbij is aangetoond dat er een post-receptordefect in de glucoseverwerking is) daalt het glucoseverdelingsvolume<sup>49</sup>. Waarschijnlijk spelen hier ook veranderingen in het volume van het extracellulaire water mee. Verder is het bekend dat de insulinegevoeligheid toeneemt na het starten van deze behandeling. Afnemend van de obstructie in de glucoseverwerking kan de waarnemingen logisch met elkaar in verband brengen. Ook bij acromegalie komt een post-receptordefect in de glucoseverwerking voor. Interessant is dan ook dat bij acromegalie het glucoseverdelingsvolume (uitgedrukt als percentage van het lichaamsgewicht) met 25% is toegenomen<sup>4</sup>, hoewel dat ook deels zou kunnen samenhangen met de veranderde lichaamssamenstelling bij deze ziekte. Bij obese personen wordt gelijktijdig met een toegenomen insulineresistentie ook een toegenomen verdelingsvolume van glucose vastgesteld (16% meer; gecorrigeerd voor het overgewicht)<sup>50</sup>. Aanwijzingen voor een groter verdelingsvolume van glucose bij honden met diabetes mellitus vonden Cowan en Hetenyi<sup>51</sup>. Een mogelijke oorzaak is het (bij diabetes mellitus bekende) post-receptordefect in de glucoseverwerking. De "poolfraction" moest daarom ook kunstmatig worden verhoogd van 65 naar 87%. Er zijn geen onderzoeken bekend waaruit blijkt dat het glucoseverdelingsvolume afhankelijk is van de bloeddruk zoals dat bijvoorbeeld het geval is voor het verdelingsvolume van albumine bij lang bestaande type I diabetes mellitus<sup>52</sup>.

Ook bij gezonde menselijke vrijwilligers is het mogelijk om accumulatie van vrije intracellulaire glucose op te wekken<sup>53</sup>. Voor inspanning zijn de concentraties van vrije intracellulaire glucose en glucose-6-fosfaat zeer laag en onder invloed van inspanning is er aanvankelijk nog geen toeneming van vrije glucose. Bij optredende ver-



moeidheid is er echter van beide metaboliëten wel een toename tot 8.5 mmol/kg droog gewicht van de spier te constateren. In rust zijn de glucoseopname en de glucoseutilisatie van het been gelijk maar bij zware inspanning (en optredende vermoeidheid) wordt de glucoseopname van de spier groter dan de gemeten glucoseutilisatie. De glucoseopname van de spier is dus kennelijk afhankelijk van de energiestatus van de spier. Het verschil tussen de (grotere) glucoseopname en de (kleinere) glucoseutilisatie is geaccumuleerde vrije glucose. Bij de berekening van het intracellulaire glucosegehalte in dit experiment ging men uit van het volgende:

De extracellulaire water concentratie in liters per kilogram spier werd geacht te zijn 0.30, 0.48, 0.56 en 0.53 bij respectievelijk rust, submaximale inspanning, maximale inspanning en tijdens uitrusten<sup>54</sup>. De extracellulaire glucoseconcentratie werd gelijk gesteld aan de plasmaglucoseconcentratie. De stijging van de intracellulaire glucose na inspanning bleek op deze manier berekend dan 13-voudig (van 0.67 naar 9.39 mmol/kg droge spier). Tijdens de inspanning was de concentratie reeds 8.50. De glucose-6-phosphaat concentratie was eerder op een maximum, namelijk reeds tijdens maximale inspanning (van 1.21 naar 8.53). Dit was een 7-voudige stijging. De hexokinaseactiviteit in de skeletspier is ongeveer 8.9 mmol/kg droge spier/min, dus in de situatie tijdens en na de inspanning moet er remming van hexokinase geweest zijn, waarschijnlijk door het product glucose-6-phosphaat. Soortgelijke waarnemingen zijn eerder gedaan<sup>55,56</sup>. Het is onwaarschijnlijk gemaakt dat de accumulatie van de intracellulaire glucose het gevolg is van glycogenolyse in de cel zelf<sup>57</sup>.

#### 4. CONCLUSIE.

In de literatuur zijn voldoende argumenten te vinden voor de stelling dat enkele al wat oudere theorieën niet meer juist zijn.

Het concept dat vrije intracellulaire glucose niet voorkomt door de hoge affiniteit van hexokinase voor glucose ten opzichte van de snelheid van het membraantransport, lijkt achterhaald. Vrije glucose kan in bepaalde situaties wel degelijk worden aangetoond in cellen. Dit lijkt het gevolg te zijn van een ongelijkheid in aanbod van over de celmembraan te transporteren glucose ten opzichte van de snelheid van de cellulaire glucoseverwerking.

Vrije intracellulaire glucose wordt meegemeten bij de bepaling van het glucoseverdelingsvolume en dus moet worden geconcludeerd dat het veronderstellen van een glucoseverdelingsruimte van onveranderlijke grootte in verschillende situaties niet juist is.

Er lijkt een directe relatie tussen het glucoseverdelingsvolume en vrije intracellulaire glucose te bestaan. Misschien hebben diabetespatiënten een grotere kans op een toegenomen glucoseverdelingsvolume omdat ze enerzijds bloot staan aan overmaat insuline (toegenomen glucosetransport over de celmembraan) en anderzijds omdat ze een post-receptordefect hebben (dat wil zeggen onvoldoende verwerking van intracellulaire glucose).



## GLUCOSEMETABOLISME.

Dit hoofdstuk is ingedeeld in:

1. Insulinefysiologie.
2. De weg van glucose.
3. Trans-membraantransport van glucose.
4. Het post-receptordefect.
5. Het massaffect van glucose.
6. "Klinische" insulineresistentie.
7. Glucoseproductie en glucoseutilisatie.
8. Indeling van soorten glucoseproductie en utilisatie.
9. Meet- en berekeningsmethode van insuline onafhankelijke glucoseutilisatie.
10. Michaelis-Menten kinetiek en glucoseverwerking.
11. Niet van insuline afhankelijke glucoseutilisatie bij gezonden.
12. Niet van insuline afhankelijke glucoseutilisatie bij type II diabetes mellitus.
13. De glucoseutilisatie van de hersenen als onderdeel van de niet van insuline afhankelijke glucoseutilisatie.
14. De relatie tussen glucose en glucoseutilisatie; glucoseklaring.

### 1. INSULINEFYSIOLOGIE.

De hoeveelheid insuline die per etmaal gesecerneerd wordt is ongeveer 20-25E<sup>58,59,60,61</sup>. In basale (post-absorptieve) toestand heeft insuline een negatief feedback effect op z'n eigen secretie<sup>62</sup>. C-peptide wordt door het pancreas gesecerneerd in equimolaire hoeveelheden als insuline. De extractie van C-peptide door de lever is zeer gering. Daarentegen wordt ongeveer 50% van de insuline door de lever bij eerste passage verwijderd<sup>63,64</sup>. Bij gezonde personen zijn in basale toestand de perifere insulinespiegels 2-3 keer lager dan in het vena portae gebied<sup>65,66</sup>. Na een glucosebelasting neemt het verschil aanmerkelijk toe. Er schuilt dus enig gevaar in het vergelijken van gezonden en diabetespatiënten bij (experimenteel) gelijk gemaakte perifere insulinespiegels aangezien de patiënten dan een relatieve portale hypoinsulinemie hebben. Er is ook in dynamisch opzicht nog een belangrijk verschil. Bij een koolhydraatbelasting wordt door het snelle effect van endogene insuline, de glucoseproductie door de lever eerder gereduceerd dan bij het snel perifeer infunderen van insuline (om deze belasting te verwerken). Voorts wordt insuline door de nieren geklaard<sup>67</sup>, maar verdwijnt ook (in mindere mate) na internalisatie van het insulinereceptorcomplex in insulinegevoelige cellen<sup>68</sup>. De halfwaardetijd van insuline bedraagt  $5,2 \pm 0,7$  min en kan aanmerkelijk zijn verlengd bij diabetespatiënten met een hoge titer van insuline-antilichamen<sup>66</sup>.

## 2. DE WEG VAN GLUCOSE.

De resorptie van koolhydraten in de darm neemt minimaal 210 min in beslag<sup>69</sup>. De in de perifere circulatie waar te nemen stijging van de glucoseconcentratie na een orale glucosebelasting is voornamelijk het gevolg van de in de darmen geresorbeerde glucose die bij eerste passage aan de leveropname is ontsnapt. Er wordt initieel slechts  $\pm 10\text{--}30\%$  van de door de darm opgenomen glucose door de lever achtergehouden<sup>64,69,70,71,72,73,74</sup>. De perifere weefsels leveren dus een zeer belangrijke bijdrage aan de totale lichaamsglucoseverwerking<sup>70,71,75</sup>. Na orale glucosebelasting stijgen pyruvaat en lactaat terwijl  $\beta$ -hydroxyboterzuur en acetoacetaat dalen<sup>64,76,77</sup>. Na een belasting met meer dan  $\pm 50$  g glucose daalt glucoseproductie met  $50\%$ <sup>70</sup>. Het merendeel van de perifere glucoseopname wordt door insuline gemedieerd<sup>71</sup>. Dit betekent enerzijds dat de periferie een belangrijke determinant is van (gewenste) insulinegevoeligheid maar anderzijds ook dat (ongewenste) verhogingen van de glucoseconcentratie eveneens in belangrijke mate door de periferie worden bepaald. Dit is aangetoond met diverse technieken (zoals de orale glucosetolerantie test en de euglycemische clamp techniek) bij zowel gezonde personen als bij diabetespatiënten<sup>78</sup>. Wanneer men aanneemt dat glucoseopname door de beenspier representatief is voor de opname in de totale lichaamsspiermassa, dan gaat ongeveer  $85\%$  van de (door insuline gemedieerde) glucoseopname bij een insulinespiegel van  $\pm 100$  mE/l naar de spieren<sup>74,79</sup>. De hoeveelheid glycogeen die de lever op korte termijn kan synthetiseren uit intraveneus toegediende glucose is zeer beperkt ( $7\text{--}14\%$ ). Er is ook nauwelijks een relatie tussen enerzijds de glycogeensynthese in de lever en anderzijds de glucoseconcentratie in het bloed of de snelheid van glucoseinfusie. Deze vorm van leverglycogeensynthese staat bekend als de "direct pathway"<sup>80</sup>. Het percentage kan echter na verloop van tijd oplopen tot maximaal  $74\%$  bij toenemende glucoseinfusie-snelheid en/of toenemende glucoseconcentratie<sup>81,82</sup>. Met de term "indirect pathway" wordt de glycogeensynthese in de lever bedoeld uit "non-glucose precursors" (bijvoorbeeld het lactaat aanbod uit spieren en darmen na een orale glucosebelasting<sup>83,84</sup>). De opname van glucose door het splanchnicus gebied in engere zin (dus zonder de lever) is slechts  $5\%$  van de totale glucoseopname gedurende insulinstimulatie. De glucoseopname in vetweefsel is slechts  $1\text{--}2\%$  van de totale glucoseopname in het lichaam<sup>85</sup>.

## 3. TRANS-MEMBRAANTRANSPORT VAN GLUCOSE.

In het kort zullen enkele karakteristieken van het transport van glucose over de celmembraan worden besproken. Voor meer gedetailleerde informatie wordt men verwezen naar een bekend overzichtsartikel<sup>86</sup>.

Het klinische belang van het membraantransport van glucose is, dat dit transport een belangrijke determinant blijkt te zijn van de glucosetolerantie. In normale fysiologische omstandigheden blijkt duidelijk dat het membraantransport in de gehele keten van het glucosemetabolisme de "rate limiting step" is<sup>33,87,88,89,90</sup>. De eer dit als eerste te hebben vast gesteld komt toe aan Levine<sup>91</sup>. Ook in vitro (adipocyten) is gebleken dat het glucosetransport (bij lage glucoseconcentraties) de "rate limiting step" is bij glucoseopname<sup>92,93</sup>. Er is ook een relatie vast gesteld tussen het (in vitro) glucosetransport over de

adipocyten membraan en de (in vivo) glucosetolerantie<sup>94</sup>. Insuline is het hormoon dat de snelheid van het membraantransport bepaalt. Aangezien reeds een beperkte insulineverhoging leidt tot een sterke toeneming van de glucoseopname terwijl het membraantransport de "rate limiting step" is moet de insulinewerking dus wel in belangrijke mate op het membraantransport van glucose gericht zijn. Insuline bindt aan receptoren die in de celmembraan gelegen zijn. Een effect van insuline is onder meer een toeneming van het aantal "glucosecarriers"<sup>86,95,96,97</sup>. Het mechanisme van de insulinewerking berust op een snelle en reversibele translocatie van glucosetransport-eenheden vanuit een grote intracellulaire "pool" naar de celmembraan<sup>98</sup>. Er zijn weinig aanwijzingen dat door insuline ook de activiteit van het glucosetransportsysteem als zodanig verandert<sup>90,95,99</sup>. Er wordt verondersteld dat de (aan elkaar) gebonden insuline en receptor (complexen) na opname opnieuw vanuit het celplasma in gedissociëerde vorm naar de membraan kunnen terugkeren om dan opnieuw aan een volgende cyclus te beginnen. Indien er een koppeling zou zijn van het complex aan een "glucose transporter" ("carrier") dan is het voorstelbaar dat het fenomeen "down regulation" van receptoren niet per sé een direct gevolg behoeft te zijn van hyperinsulinemie maar dat dit veroorzaakt zou kunnen worden door een relatieve beperking van de intracellulaire glucoseverwerking. Zo'n beperking zou kunnen leiden tot een niet snel genoeg weer vrij komen van het insuline-receptor-complex uit de binding daarvan met glucose en de "glucose transporter". In de rattevetcel zijn er inderdaad aanwijzingen dat "insulineresistentie" bij (door streptozotocine geïnduceerde) diabetes het gevolg is van een depletie van intracellulaire glucosetransportsystemen<sup>100</sup>. Dit zou kunnen inhouden dat een verminderd insuline-effect ook verenigbaar is met een afgenomen aantal van deze transporteenheden. Een verminderd glucose(massa)effect zou op een verminderde functie van de transporteenheden kunnen duiden.

De manier waarop glucosetransport plaats heeft wordt enigszins verschillend aangegeven. Algemeen aanvaard zijn de stereospecificiteit en het feit dat het transport saturatiekenmerken vertoont<sup>89,97</sup>. Er wordt ook wel gesproken over een door "carriers" gemedieerde gefaciliteerde diffusie. De energie die daarvoor benodigd is wordt geleverd door de gradiënt van glucose over de celmembraan<sup>101</sup>. Men neemt aan dat tot een maximum van ongeveer 20% receptor bezetting het membraantransport "rate limiting" is bij de glucoseopname en dat daarboven "post-receptor events" de beperkende factor in de snelheid van glucoseverwerking worden<sup>102</sup>. Zowel in vitro<sup>103</sup> als in vivo<sup>90</sup> is gevonden dat insuline de maximale glucosetransport snelheid kan beïnvloeden zonder invloed te hebben op de half maximale transportsnelheid van glucose. Insuline beïnvloedt dus wel de  $V_{\max}$  maar niet de  $K_m$  of nog anders geformuleerd: insuline beïnvloedt wel de "responsiveness" maar niet de "sensitivity" van het glucosetransport.

Zekerheid over het aanwezig zijn van een maximaal glucosetransport heeft men in vitro door te werken met een hoge glucoseconcentratie en een relatief hoge temperatuur<sup>104</sup>. Soms ligt de glucoseconcentratie waarbij maximaal transport wordt bereikt, al bij opvallend lage glucoseconcentraties: 18-48 mg/dl<sup>105,106,107</sup>. De  $K_m$ 's van het glucosemembraantransport zijn in vitro en in vivo opmerkelijk gelijk. Voor adipocyten<sup>99</sup>, fibroblasten<sup>108</sup>, ratteskeletspier<sup>109</sup> en konijnehersenen<sup>110</sup> is de waarde 6-13 mM en voor de totale glucoseopname in het lichaam 8-12 mM. De metingen van slechts enkele auteurs vallen enigszins buiten deze range (in vitro 6-9 mM<sup>111</sup> en in vivo 6-8 mM<sup>90</sup>).

Concluderend kan gesteld worden dat voor klinisch (patho-)fysiologisch onderzoek de belangrijkste constatering is dat in normale omstandigheden het membraantransport van glucose "rate limiting" is bij de glucoseopname in de cel en daardoor dus eigenlijk voor vrijwel de gehele lichaamsglucoseopname. Er komen steeds meer aanwijzingen dat dit in pathologische situaties anders zou kunnen zijn.

#### 4. HET POST-RECEPTORDEFECT.

Alle processen waarin glucose betrokken raakt nadat het over de celmembraan is getransporteerd, worden post-receptorgebeurtenissen genoemd. De deelterm "receptor" heeft betrekking op de dominante rol van de insulinereceptor bij het trans-membraantransport van glucose. Een post-receptordefect is een beperking in het glucosemetabolisme distaal van de insulinereceptor. Een post-receptordefect kan in principe pas meetbaar worden als het de "rate limiting step" in de glucoseverwerking is geworden. Indien het glucosetransport op het niveau van de receptor nog een stapje trager is dan de post-receptor gebeurtenissen, dan merkt men de beperkte snelheid daarvan niet op als een post-receptordefect.

Zoals reeds vermeld is, is bij 10-20% receptorbezetting de stimulering van het glucosetransport reeds maximaal. Bezetting van het resterende deel van de receptoren heeft geen verder effect. Deze overmaat aan niet gebruikte receptoren is de grondslag van het zogenaamde "spare receptor concept"<sup>112</sup>. Bij het bereiken van dit percentage bezetting van insulinereceptoren zijn dus niet meer de processen bij de receptor, maar de verdere stappen in de cellulaire glucoseverwerking "rate limiting" geworden voor de gehele glucoseverwerkingsketen<sup>113</sup>. Indien de gemeten glucoseopname achter blijft bij de op grond van receptor bezetting verwachte glucoseopname, spreekt men dus van een manifest post-receptordefect. De limiterende werking van het post-receptordefect op de glucosetofwisseling kan worden weergegeven als een percentage van de verwerking zoals die zou hebben plaats gevonden indien géén post-receptordefect aanwezig was geweest:

$$\text{Post-receptordefect (\%)} = 1 - \frac{\text{gemeten glucose opname}}{\text{verwachte glucose opname}} \times 100$$

Er zijn drie groepen oorzaken aan te geven voor een post-receptordefect. In de eerste plaats kan er sprake zijn van een abnormale koppeling tussen insulinereceptor en het glucosetransportsysteem. In de tweede plaats is verminderde activiteit van het glucosetransportsysteem in engere zin een mogelijkheid. In de derde plaats is het mogelijk dat er (intracellulaire) enzymatische stoornissen zijn in het glucosemetabolisme.

Diverse onderzoeksbenaderingen kunnen aannemelijk maken dat het bestaan van een post-receptordefect reëel is. Indien in vitro de procentuele binding van insuline aan monocyt, fibroblasten of erythrocyten normaal is, terwijl de glucoseopname van die cellen beperkt is, verklaart men dit met de aanwezigheid van een post-receptordefect. Een klassiek voorbeeld hiervan is de zich als diabetes mellitus manifesterende ziekte Leprechaunisme<sup>114</sup>. Enige argwaan ten aanzien van gepubliceerde aantallen insulinere-



ceptoren op (met name rode) bloedcellen is echter wel gerechtvaardigd. Op deze cellen worden namelijk wel insulinerceptoren aangetroffen maar ze vertonen nauwelijks een metabole respons op insuline. Een normale glucoseopname van cellen in combinatie met een gereduceerde glucoseoxidatie pleit ook voor een post-receptordefect. Het gelukt alleen om een post-receptordefect aan te tonen in een hyperinsulinemische situatie (insulinespiegel  $>30$  mE/l). Hoge insulineconcentraties kunnen in enkele uren leiden tot een groot verlies (75%) aan bindingscapaciteit voor insuline, terwijl gelijktijdig ook een vermindering in maximaal insuline-effect ("responsiveness") is waar te nemen<sup>115</sup>. Dit voorbeeld geeft de derde manier aan om een post-receptordefect vast te stellen. Indien er alleen een receptorstoornis is vindt men bij stimulatie met insuline een half maximale glucoseopname bij hogere insulinespiegels met een normale maximale opname ("decreased sensitivity"), terwijl er bij een post-receptordefect een (bijna) normale half maximale glucoseopname wordt gevonden bij een duidelijk verminderde maximale opname ("decreased responsiveness"). Indien men dus in vivo een beperking van de glucoseutilisatie vindt bij suprafysiologische insulinespiegels pleit dit voor een post-receptordefect. Ook met "labelling" van glucose kan men een post-receptordefect (en de localisatie ervan) op het spoor komen. Het 1<sup>e</sup> koolstofatoom in glucose wordt bijvoorbeeld grotendeels geoxideerd in de hexose monophosphaat shunt. Het 6<sup>e</sup> koolstofatoom gaat vooral de glycolyse en de Krebs-cyclus in. Uit veranderingen van tracerconcentraties in het bloed kunnen conclusies worden getrokken over de localisatie van een beperking in de glucoseverwerking.

Enige ziekte toestanden en pathologische situaties waarbij een post-receptordefect is gevonden zullen nu worden beschreven. In diabetische ratten is zoals vermeld een post-receptordefect aangetoond. Uit onderzoek naar de localisatie van het post-receptordefect bleek dat de belangrijkste (deel)stoornis was gelocaliseerd in de hexose monophosphaat shunt<sup>116</sup> (synonym pentose fosphaat cyclus). Dit is een alternatief biochemisch pad naast de glycolyse (Embden-Meyerhof pad) en de citroenzuur cyclus voor glucoseoxidatie. Het gevolg is waarschijnlijk een gestoorde omzetting van glucose in vrije vetzuren<sup>117</sup>. Dit leidt tot NADPH accumulatie en geeft een belemmering van de glucoseoxidatie. Andere auteurs geven aan dat op meerdere biochemische localisaties er sprake kan zijn van een post-receptordefect<sup>118</sup>. Post-receptordefecten zijn ook gemeld in andere diermodellen van type I diabetes (geïsoleerde spiercellen<sup>119,120</sup> en vetcellen<sup>121,122</sup>). Intensieve insuliner therapie kan insulineresistentie van type I patiënten doen afnemen maar niet volledig doen normaliseren<sup>123</sup>. De insulinerceptorbinding wordt normaal (dus de "insulin sensitivity") maar het post-receptordefect (tot uiting komend in verminderde "responsiveness") blijft aanwezig.

Ook bij type II diabetes zijn er post-receptordefecten gevonden. Naarmate de ziekte ernstiger wordt (met als uiting hogere nuchtere glucosespiegels), gaat de aanvankelijk nog aanwezige negatieve correlatie tussen insulineresistentie en aantallen insulinerceptoren verloren. Als de insulineresistentie verder toe neemt, verandert de mate van binding van insuline aan de receptoren niet meer. Dit pleit dus voor de aanwezigheid van een post-receptor defect<sup>124</sup>. Er is echter zeker bij een milde graad van type II diabetes ook (of alleen maar) een "gewoon" receptordefect aanwezig.

Er zijn nogal wat aanwijzingen dat de oorzaak van het post-receptordefect gezocht moet worden in de enzymatische stappen van de spierglycogeensynthese. Het blijkt dat in normale omstandigheden al na matige inspanning de glycogeensynthese van de spier

toeneemt<sup>125,126,127</sup>. Glucoseopname en glucosetransport nemen toe, zelfs zonder de aanwezigheid van insuline<sup>128</sup>. Bij diabetes mellitus zijn hier diverse stoornissen aanwijsbaar. Overinsulinisatie zou bijvoorbeeld leiden tot een afneming van enige sleutelenzymen in het glucosemetabolisme (glycogeensynthetase en pyruvaatdehydrogenase)<sup>129</sup>. Van belangrijke enzymen uit de glycolyse, het phosphofructokinase en het pyruvaatkinase, blijkt de activiteit ook beperkt bij type I diabetes. De bij obesitas aangetroffen overmatige glycogeeninhoud van de spieren zou op zichzelf aanleiding kunnen geven tot productremming van het glycogeensynthetase<sup>130</sup>, maar het belang hiervan wordt betwijfeld. Bij experimentele overvoeding is namelijk gebleken dat personen met een grote glycogeen ophoping in de spieren de geringste vermindering hadden van de activiteit van het glycogeensynthetase<sup>131</sup>.

Naast dit (waarschijnlijk belangrijkste) probleem in de glycogeensynthese van de spier is er ook een onvermogen om normale hoeveelheden glycogeen in de lever te synthetiseren en te accumuleren<sup>132,133</sup>. De meest waarschijnlijke oorzaak is een afneming van het glycogeensynthetase<sup>134,135</sup>. De afneming van de synthetaseactiviteit wordt veroorzaakt door een vermindering van een enzym dat het synthetase activeert, het synthetasephosphatase<sup>136,137</sup>. Bij nog niet lang bestaande diabetes kan exogene insuline (indirect via glucose) synthetase reactiveren<sup>138,139,140,141,142</sup>. Bij langer bestaande diabetes (of slechte regeling ?) blijft deze situatie meer permanent gestoord<sup>143</sup>. Er is dan dus sprake van een gestoorde enzyminductie als oorzaak van het post-receptordefect. Het is overigens nog wel van belang om onderscheid te maken tussen lever- en spierglycogeensynthetase<sup>144</sup>. Leverglycogeensynthetaseactiviteit wordt voornamelijk gereguleerd door de glucosespiegel en is relatief ongevoelig voor insuline terwijl spierglycogeensynthetase juist voornamelijk door insuline wordt gereguleerd. Beide zijn waarschijnlijk in het algemeen "rate limiting" bij de glycogeenvorming<sup>139</sup>. Een andere belangrijke regulator van de glycogeensynthese is het leverglucokinase. Koolhydraataanbod en insuline<sup>145</sup> geven inductie van dit (eerste) enzym uit de glycolytische en glycogenetische keten in de lever. Bij hongeren vermindert de activiteit ervan. Glucagon (dat verhoogd is bij een slechte diabetes regulatie) en catecholaminen remmen de inductie. Ook de glucokinase activiteit kan een "rate limiting step" zijn bij de post-receptorgebeurtenissen. Glucokinase is in normale omstandigheden "de portier van de lever". Hiermee wordt bedoeld dat de glucoseverwerking in de lever vrijwel geheel door glucokinase wordt gereguleerd. Dit kan omdat de  $K_m$  van leverglucokinase vrijwel gelijk (of lager) is aan/dan de glucoseconcentratie van het (portale) bloed terwijl het enzym verder nauwelijks geremd wordt door glucose-6-phosfaat<sup>146,147</sup>. Het glucokinase is daarom waarschijnlijk verantwoordelijk voor bijna alle phosphorylering van glucose in de lever zodat stijging van de activiteit inderdaad ook aantoonbare stijging geeft van de glycogenese<sup>148</sup>. Slechte diabetes regulatie geeft een daling van de glucokinase activiteit<sup>149</sup> en een verbeterde regulatie heeft het omgekeerde tot gevolg<sup>150,151</sup>.

Tot slot is het nuttig om nog twee voorbeelden te noemen uit de fysiologie die illustreren hoe belangrijk post-receptor gebeurtenissen kunnen zijn bij de glucosestofwisseling. In studies waarin men ratten liet hongeren, is gebleken dat de glycogeenvoorraad in de spier een belangrijke determinant is van de insulinegevoeligheid. Het bleek dat de "insulin sensitivity" van het transportsysteem onafhankelijk is van de glycogeenvoorraad, maar dat de "responsiveness" (lees post-receptordefect) wel in sterke mate wordt bepaald door voornoemde glycogeen voorraad<sup>152</sup>. Een tweede voorbeeld betreft



gezonde menselijke vrijwilligers. Bij hen bleek de maximale glucoseopname bij normoglycemie ongeveer 12.6 mg/kg/min (bij een insulinespiegel van 200 mE/l). De  $K_m$  van insuline voor de glucoseopname was 72 mE/l. De  $V_{max}$  voor de glucoseoxidatie was maximaal 4.0 mg/kg/min met een bijbehorende insuline  $K_m$  van 40 mE/l. De glucoseopslagcapaciteit had een  $V_{max}$  van 8.7 mg/kg/min met een insuline  $K_m$  van 105 mE/l. Het verhogen van de glucoseconcentratie met 125 mg/dl deed de maximum opname stijgen naar maar liefst 32.5 mg/kg/min terwijl de glucoseoxidatie in het geheel niet meer toenam<sup>153</sup>. Deze gegevens bewijzen dat er saturatie aanwezig moet zijn in de glucoseoxidatie bij hyperinsulinemische normoglycemie.

Naar aanleiding van het voorgaande zijn een aantal conclusies te trekken. De maximale snelheid van het post-receptor metabolisme van glucose wordt normaliter niet gemeten, omdat deze niet een snelheidsbepalende stap is bij de glucoseverwerking. Indien op enigerlei wijze ergens in dit biochemische traject verzadiging optreedt of een stap snelheidsbepalend wordt, dan is er een manifest post-receptordefect ontstaan. Talloze stappen zijn kandidaat om (tijdelijk) de snelheidsbepalende te zijn. Het behoeft naar de mening van de auteur geen verbazing te wekken indien op den duur zou blijken dat veel ziekten die leiden tot een "metabole intoxicatie" (leverziekten, nierziekten, infecties) een post-receptordefect in de glucoseverwerking induceren. Bij diabetes mellitus kan men in dit verband denken aan voorgaande hyperglycemie ("glucose toxicity" ?) die de glucoseopname kan doen verslechteren<sup>154</sup>.

## 5. HET MASSAEFFECT VAN GLUCOSE.

De belangrijkste determinanten van de totale lichaamsglucoseopname (synoniem "total body glucose disposal") maar ook van de perifere glucoseutilisatie (synoniemen glucoseutilisatie, glucoseopname, "rate of disappearance:  $R_d$ ") en de glucoseproductie (synoniemen "glucose production", "rate of appearance:  $R_a$ ") zijn de glucose- en insulineconcentratie in het bloed. De effecten van glucose zullen hier worden besproken.

Het effect van de glucoseconcentratie op de glucoseverdwijning uit het bloed wordt ook aangeduid als "massaeffect"<sup>155,156</sup>. Dit massaeffect van glucose, dus het vermogen om z'n eigen verdwijning te bewerkstelligen zonder dat de insulinespiegel stijgt, is door Bergman c.s. "glucose effectiveness" genoemd<sup>157,158</sup>. Bij experimenten met honden bleek dat glucose per sé, onafhankelijk van de dynamische insulinerespons, een zeer belangrijke determinant was van de glucosetolerantie. Diverse andere auteurs hebben ook vastgesteld dat glucosetolerantie een gecombineerd effect is van zowel gesecreerde insuline als van glucose zelf met betrekking tot suppressie van de endogene glucoseproductie en stimulatie van de glucoseopname<sup>156,159,160,161,162,163,164,165,166</sup>. In een ander onderzoek, helaas ook weer bij honden, werd gevonden dat een (bij constante insulineinfusie) opgewekte glucosedaling resulteerde in een toenemende glucoseproductie die onafhankelijk was van een stijging in de contraregulerende hormonen<sup>167</sup>. Deze waarneming is diverse malen bevestigd<sup>168,169,170,171</sup>. De effecten op de glucoseproductie bestaan zowel uit een verandering van de glucoseafgifte als uit een verandering van de glucoseopname in de lever. Bij het gebruik van de "splanchnic catheterisation" techniek (meting van glucoseconcentraties "voor en achter" de lever) kunnen beide parameters niet worden gescheiden. Bij het gebruik van een "isotope dilution" methode is dit wel

mogelijk. Bij die techniek bestaat er echter enige onzekerheid over de vraag of de gebruikte "tracer" wel volledig het metabolisme van "koude" glucose representeert. Wisselingen van de glucoseconcentratie kunnen namelijk invloed hebben op de mate van "futile cycling". Bij een "isotope dilution" methode wordt er namelijk van uitgegaan dat er géén cycling is van "tracer" door glycogeen. Bij honden is echter gevonden dat er met name tijdens hyperglycemie nog afgifte kan plaats hebben van tracer uit glycogeen<sup>172</sup>.

Het is belangrijk om een duidelijk onderscheid te maken tussen het massaffect op de totale lichaamsglucoseopname, op de (perifere) glucoseopname en op de glucoseproductie. Hoewel het massaffect in theorie vrij is van hormonale invloeden dient men zich wel te realiseren dat het (zéér wel) mogelijk is dat onze meetmethoden tekort schieten om elke, door glucoseveranderingen teweeg gebrachte hormonale verandering, zichtbaar te maken. Zo zijn waarschijnlijk minimale (niet opgemerkte) veranderingen in de glucagonspiegel (ook nog juist daar waar ze niet worden gemeten) in het v. portae gebied van invloed. Ook de intrahepatische noradrenalineafgifte uit sympathische synapsen kan aan detectie ontsnappen omdat door heropname van het noradrenaline in de synaps<sup>173</sup>, de perifeer gemeten noradrenalinespiegel geen verandering zou kunnen vertonen. Het is mogelijk om met farmacologische interventie bijna alle hormonale invloeden gedurende een experiment te voorkomen. In dat geval ontstaat er echter wel nieuwe onzekerheid over de effecten van de gebruikte pharmaca op het massaffect. Naast de meer (bio)chemische benaming massaffect is het in de fysiologische literatuur gebruikelijk om te schrijven over "glucose autoregulatie". Autoregulatie is een mechanisme waarin de gevolgen van het massaffect van de glucoseconcentratie in het bloed tot uiting komen. De eersten die er melding van maakten, waren Soskin en Levine<sup>155</sup>. In de literatuur is de "hepatic autoregulation" een populairder onderzoeksgebied dan de "whole body autoregulation". Uit praktisch oogpunt bezien is de laatste belangrijker omdat men juist bij diabetesregulatie met dit mechanisme te maken heeft. Het belang ervan is, dat een grote mate van autoregulatie zou kunnen leiden tot een grotere mate van stabiliteit in de glucosespiegel en een geringere mate tot verminderde stabiliteit. Het nut van autoregulatie bij ernstige hypoglycemie is reeds beschreven<sup>174,175</sup>.

Over de "hepatic autoregulation" in het bijzonder valt het volgende te melden. Hoewel sterk verschillend van mening over de grootte zijn vrijwel alle auteurs van mening dat het effect bestaat<sup>75,156,163,176,177,178,179,180,181,182,183,184</sup>, op een enkeling na<sup>185</sup>. Het effect bij de mens op de leverglucoseproductie in vivo is lichtelijk omstreden: sommigen vinden het niet<sup>182,183,186</sup> de meesten wel<sup>75,163,171,187,188</sup>. Het effect in vitro op de glucoseproductie door glucose is onomstotelijk bewezen, op grond van remming van glucoseproductie van geïsoleerde hepatocyten door glucose<sup>189</sup>. Hetzelfde fenomeen is waarneembaar in een geperfundeerde, geïsoleerde rattelever<sup>190</sup>. Een oorzaak voor het niet kunnen vaststellen van autoregulatie kan gelegen zijn in (te) hoge insulineconcentraties gedurende sommige experimenten. In zo'n geval zou er in het geheel geen sprake meer kunnen zijn van glucoseproductie door de lever als gevolg van een zéér effectieve suppressie. Indien het aandeel van de door insuline gemedieerde remming van de leverglucoseproductie hoog is in verhouding tot het totaal aan potentiëel meetbare autoregulatieeffecten bij een lagere insulinespiegel, dan zal de omvang van de autoregulatie worden onderschat. Voor zowel glucoseproductie als glucoseutilisatie geldt verder dat

indien het aandeel van de door insuline gemediëerde glucoseopname toeneemt ten opzichte van de door glucose gemediëerde glucoseopname, er minder effect zichtbaar zal zijn van de laatst genoemde vorm van glucoseopname. Bij onderzoek waarin van somatostatine gebruik wordt gemaakt, speelt nog het probleem van de recent geconstateerde stimulering van de insuline gemediëerde glucoseopname door dit hormoon<sup>191</sup>. Er ontstaat dan een probleem analoog aan dat wat zojuist voor teveel insuline werd beschreven. Indien men de "onmeetbare" hormonale effecten niet uitsluit als oorzaak van autoregulatie dan kan suppressie van glucagon door somatostatine ook een oorzaak zijn van onderschatting van de omvang van de autoregulatie (de glucoseconcentratie is een belangrijke regulator van de glucagon secretie). Een illustratie van het feit dat kleine, in het algemeen nauwelijks meetbare hormonale veranderingen, waarschijnlijk al aanzienlijke invloed hebben op de glucoseautoregulatie is te vinden in de studie van Hansen et al.<sup>183</sup>. Deze auteurs constateerden dat bij gezonde proefpersonen autoregulatie van de glucoseproductie door de lever inderdaad zeer gering was, indien men alle hormonale effecten die door glucosespiegelveranderingen zouden kunnen worden uitgelokt voorkwam met behulp van somatostatine en gecombineerde adrenerge alfa- en betablokkade (propranolol/fentolamine). Zij vonden een toeneming in leverglucoseproductie van 1.3 mg/kg/min bij een glucosedaling van 95 naar 65 mg/dl en een daling van 1.5 mg/kg/min bij een glucosetijging van 65 naar 95 mg/dl. Bij gecombineerde alfa- en betablokkade was de stijging in hetzelfde glucosetraject 0.0 mg/kg/min en de daling 0.5 mg/kg/min. De conclusie was dan ook dat de gecombineerde blokkade de autoregulatie van de glucoseproductie deed dalen naar 70-100% onder het niveau zonder de blokkade (met alleen somatostatine).

Een verklaring voor autoregulatie is de waarneming dat de glucoseconcentratie invloed heeft op enzymatische reacties die leiden tot glycogeensynthese (glycogeensynthetase) en glycogenolyse (remming van glycogeenphosphorylase<sup>192</sup> en glucose-6-phosphatase<sup>192,193,194,195,196,197</sup>). Ook inductie van glucokinaseactiviteit in de lever is als oorzaak gesuggereerd<sup>198</sup>. Deze effecten op enzymsystemen kunnen lang aanhouden en zo hun gunstige (of ongunstige) weerslag hebben op bijvoorbeeld het herstel van de glucosespiegel na een hypoglycemie<sup>199</sup>. Verder is er (bij constante insulineconcentratie) een stimulerende invloed van hyperglycemie op glucoseoxidatie aangetoond, onafhankelijk van de al langer bekende sterke invloed van insuline hierop. Tot slot bestaat de mogelijkheid dat één en ander gerelateerd is aan het aantal glucosetransport-eenheden dat beschikbaar is op het moment van een glucoseconcentratie verhoging. Met name de chronische (of gemiddelde) insulineconcentratie zou hiervan de bepalende factor zijn<sup>200</sup>. Dit betekent dat de insulineconcentratie een bepalende factor op langere termijn zou kunnen zijn van de "glucose effectiveness".

Er zijn in de literatuur ook enige pathologische veranderingen van autoregulatie bij de mens beschreven. Bij vetzuchtige personen werd een verminderde "glucose effectiveness" vastgesteld<sup>50</sup>. Verminderde "glucose effectiveness" werd ook gevonden bij obese type II diabetes patiënten (in basale omstandigheden)<sup>201</sup>. Er is namelijk in basale situatie een vergrote kans om de afwijking op het spoor te komen. De niet door insuline gemediëerde glucoseopname is dan relatief groot ten opzichte van de door insuline gemediëerde glucoseopname.

Als mogelijkheden om het massaffect in maat en getal uit te drukken worden genoemd de glucoseklaring (ongeschildt, omdat de glucoseopname niet onafhankelijk is

van de glucoseconcentratie), de delta-glucoseopname (bij twee glucoseconcentraties) of delta-glucoseinfusie gedeeld door de delta-glucoseconcentratie (veel beter). Er is berekend dat bij een intraveneuze glucosetolerantietest de glucosestijging zelf voldoende is om, zonder een dynamische insulinerespons, zorg te dragen voor suppressie van de glucoseproductie van de lever. In een computersimulatie van de normale glucosetofwisseling<sup>166</sup> geeft een slechts geringe vermindering van de "glucose effectiveness" dan ook een sterke afneming van de glucosetolerantie. Er werd bijvoorbeeld berekend dat 75% afneming in insulinegevoeligheid een glucoseconcentratie stijging geeft (in de steady state) van 80 naar 148 mg/dl. Indien daar 50% afneming van de van insuline onafhankelijke glucoseutilisatie extra bij komt, stijgt de glucoseconcentratie door naar 230 mg/dl. Het is duidelijk dat stoornissen in de insulinegevoeligheid deels door een goede glucose "effectiveness" kunnen worden gecompenseerd (en omgekeerd).

## 6. "KLINISCHE" INSULINERESISTENTIE.

Insulineresistentie is een toestand waarbij een gegeven hoeveelheid insuline minder effect teweegbrengt dan men verwacht. Het is van belang om bij de beoordeling van insulinegevoeligheid onderscheid te maken tussen "insulin responsiveness" en "insulin sensitivity"<sup>102,202</sup>. Bij een receptordefect is er een normale "responsiveness" (maximale glucoseopname) en een verminderde "sensitivity" (half maximale glucoseopname bij alleen een verhoogde insulinespiegel). Bij een post-receptordefect is er een verminderde "responsiveness" en een normale "sensitivity". In de praktijk lopen de effecten vaak wat door elkaar heen. Er zijn 3 hoofdoorzaken van insulineresistentie: 1. een stoornis in het insuline-effect ten aanzien van insulinegevoelige weefsels 2. circulerende insuline-antagonisten 3. een abnormaal secretie product van de  $\beta$ -cel.

Eenvoudige kwantificering van insulineresistentie is mogelijk door bepaling van de glucosebehoefte bij een gefixeerde insulinetoevoer. Deze "total body glucose disposal" kan worden weergegeven door M (mg/kg/min).

$$M = I - U - \frac{d(\text{Plasma Glucose})}{dt} \times 137 \text{ ml/kg}$$

waarbij I = Glucoseinfusie(mg/kg/min), U = Glucoseverlies in de urine (mg/kg/min). In dit voorbeeld is aangenomen dat 137 ml/kg de snel uitwisselende "glucose pool" is<sup>203</sup>, maar de grootte van deze keuze blijkt ietwat arbitrair. Met glucoseopname wordt alle glucose die vanuit het bloed de cel binnentreedt bedoeld, terwijl met glucoseutilisatie alle gemetaboliseerde glucose wordt bedoeld. Meestal neemt men aan dat opname en utilisatie gelijk zijn aan elkaar. Glucoseutilisatie kan worden onderverdeeld in glucose-oxidatie en glucoseopslag ("storage"). Over de in de formule gebruikte "M" kan gemakkelijk misverstand ontstaan. In de eerste plaats moet men er zeker van zijn dat er géén glucoseproductie meer aanwezig is omdat anders de totale lichaamsglucoseopname wordt onderschat. In de tweede plaats is het, ook bij afwezige glucoseproductie, niet zeker of "M" (dan gelijk aan de totale glucoseopname) wel de geutiliseerde glucose vertegenwoordigt. Men is namelijk niet geïnformeerd over het exacte intracellulaire lot van glucose. Afgezien van de "echt" gemetaboliseerde (geutiliseerde) glucose (lees

oxidatie en opslag) kan er in speciale omstandigheden sprake zijn van intracellulaire accumulatie van glucose (tot 14% van de glucoseopname is gevonden<sup>35</sup>). Een bekende valstrik is het onderzoeken van insulinegevoeligheid bij twee insulinespiegels die beide te hoog zijn. Het kan dan lijken alsof er geen verdere stimuleerbaarheid meer is van de glucoseopname onder invloed van de verhoogde insulinespiegel. De oorzaak is dan vaak dat reeds bij de laagste spiegel een maximaal effect was bereikt.

Bij vrijwel alle type I diabetes patiënten wordt insulineresistentie aangetroffen. Deze resistentie berust voornamelijk op een verminderde perifere glucoseutilisatie terwijl de remming van de glucoseproductie relatief ongestoord is<sup>204,205,206,207,208</sup>. Dit is in ieder geval zeker onder (gestandaardiseerde) euglycemische- en hyperglycemische omstandigheden<sup>186,205,209</sup>. Insulineresistentie kan diabetesregulatie bemoeilijken en is mogelijk geassocieerd met de complicaties van type I diabetes mellitus. Voor de macro-vasculaire complicaties lijkt dit aannemelijk<sup>210</sup>. De associatie van insulineresistentie met retinopathie is nog omstreven. Men vindt deze associatie niet bij type I<sup>211</sup>, wel bij type II<sup>212</sup> diabetes.

Waarnemingen die bij patiënten met insulineresistentie gedaan kunnen worden, zullen nu worden beschreven. Er is een goede correlatie tussen de nuchtere insulinespiegel en de graad van insulineresistentie, vooral bij beginnende, niet al te obese type II diabetespatiënten<sup>201,213</sup>. De resistentie kan ook belangrijke, verhogende effecten hebben op de nuchtere glucosespiegel<sup>78,214</sup>. De gangbare mening is dat (bij type II) de verhoogde nuchtere glucoseproductie (en daardoor de basale glucosespiegel) primair is en de verhoogde insulinespiegel secundair. In diverse studies is aangetoond dat de glucoseconcentratie zelf ook een factor is die de insulinegevoeligheid beïnvloedt<sup>215,216</sup>. Er is bijvoorbeeld gevonden dat bij (nachtelijke) normoglycemische voorbereiding van een experiment de insulinegevoeligheid al kan toenemen<sup>123</sup>. Er is dan een kans dat de resistentie die men zou willen meten, inmiddels gedeeltelijk is verdwenen. Er is ook een verband gevonden tussen overvoeding en de in die toestand gemeten hoogte van insulinespiegels tijdens een glucosetolerantietest of een maaltijd van gemengde samenstelling<sup>217</sup>. Bij een glucosebelasting bij type I diabetespatiënten met insulineresistentie zijn verder nog de volgende waarnemingen gedaan: een lagere glucoseinfusie bij een "glucose clamp", een relatief verlaagde lactaatspiegel (als uiting van verminderde glycolyse), onvoldoende pyruvaatstijging<sup>217</sup> (secundair aan de verminderde pyruvaatdehydrogenaseactiviteit), verhoogde vrije vetzuurspiegels, verhoogde glycerolspiegels<sup>218</sup> (als uiting van verminderde reësterificatie van vrije vetzuren<sup>219,220</sup> of verminderde suppressie van lipolyse) en verhoogde spiegels van (met name vertakte) aminozuren<sup>221</sup>.

Constant aanwezige hyperinsulinemie lijkt ook een insulineresistentie bevorderende factor. Ongeveer 20 uur lichte, doch constante hyperinsulinemie (spiegels 30 mE/l), in experimentele omstandigheden opgewekt, is voldoende voor het induceren van resistentie. Aangezien er na deze 20 uur geen afneming te constateren valt, wat betreft insulinebinding aan monocytten (die geacht worden insulinegevoelig weefsel te representeren), is de oorzaak van de veranderde insulinegevoeligheid waarschijnlijk gelegen op post-receptor niveau<sup>222</sup>. Bij gezonde personen blijkt dat in basale toestand de insulinespiegel oscilleert met een periode van 13 min<sup>223</sup> zodat aangenomen mag worden dat een constante spiegel zeer onfysiologisch is. Bij type II diabetes zijn er irregulaire oscillaties die gesuperponeerd zijn op schommelingen met een grotere periodiciteit<sup>224</sup>. Bij infusie van (experimenteel nagebootste) insulinepulsen blijkt dat deze een krachti-



ger werking bezitten op de perifere glucoseopname dan continu geïnfundeerde insuline<sup>225</sup>. Het toegenomen insuline-effect komt volgens andere auteurs vrijwel geheel op het conto van een verbeterde suppressie van de glucoseproductie door de lever en juist niet op een verbeterde perifere utilisatie<sup>225</sup>. Bezie men dit uit het oogpunt van mogelijke insulinebesparing dan kan dit leiden tot 40% daling<sup>226</sup>; zelfs 66% is gevonden<sup>227</sup>. Het is niet zinvol om insuline, indien subcutaan toegediend, pulserend te doseren aangezien de oscillaties bij entree in de bloedbaan door het subcutane depot reeds teniet zijn gedaan<sup>228</sup>. Ook van glucagon<sup>223,229,230</sup> en groeihormoon<sup>231</sup> is bij gezonde personen een pulserende secretie bekend. Pulserend toegediend glucagon leidt echter voor zover bekend niet tot krachtiger effecten in vergelijking met continue infusie<sup>232</sup>.

Er zijn diverse studies waarin verbetering van insulineresistentie is beschreven die was gerelateerd aan een scherpere diabetes regulatie<sup>233,234</sup>, een daling van het geglycosyleerd hemoglobinegehalte<sup>78</sup> en een afnemende van de nuchtere glucoseproductie<sup>235</sup>. Dat verbetering van de insulinegevoeligheid ook een verbeterde regulatiemogelijkheid met zich mee kan brengen, blijkt bijvoorbeeld uit de resultaten (helaas meestal maar van beperkte duur) met het "forceren" van een week normoglycemie met een Biostator<sup>236</sup>. Bij type II patiënten verbetert de insulineresistentie zowel na het gebruik van dieet, sulfonurea's<sup>237,239,240</sup> als na het gebruik van insuline<sup>241,242,243,244,245,246</sup>, hetgeen pleit voor de idee dat de verhoogde glucosespiegel oorzaak was van de "insulineresistentie".

Inspanningsonderzoek heeft veel informatie opgeleverd over oorzaken van insulineresistentie. Training leidt tot een sterke toeneming van insulinegevoeligheid. Er bestaat ook een relatie tussen de door insuline gestimuleerde glucoseutilisatie en de graad van training<sup>247</sup>. In een geperfundeerde (ratte)spier doet elektrische stimulatie zowel de "responsiveness" als de "sensitivity" toenemen<sup>125,127,248</sup>. Een anaeroob milieu stimuleert de intracellulaire glucosephosphorylering sterk en kan zo (ten dele?) een verklaring zijn voor de toeneming in de geconstateerde glucoseutilisatie<sup>27</sup>. De toegenomen glucoseopname is zeker niet alleen maar het gevolg van een betere capillaire perfusie maar veel eerder van een verhoogde membraanpermeabiliteit<sup>42</sup>. Er zijn verder aanwijzingen dat de toeneming van insuline-effect wordt gemedieerd door lokaal geproduceerde factoren<sup>126</sup> en dat de toeneming niet (alleen) het gevolg is van een toegenomen binding van insuline aan de receptor<sup>249,250</sup>. De verbetering van de glucoseopname na inspanning bij de mens lijkt uiteindelijk toch voornamelijk het gevolg van een post-receptorverandering in het glucosemetabolisme<sup>251</sup>.

Nog belangrijker mechanismen dan het voorgaande onderzoek heeft opgeleverd, komen aan het licht bij onderzoek met behulp van indirecte calorimetrie. Glucose kan door cellulaire glucoseoxidatie en door non-oxidatieve glucoseopslag uit het verdelingsvolume of de "glucose pool" verdwijnen. Na een glucosebelasting die de glucoseopname doet stijgen van 2,2 naar 7 mg/kg/min neemt bij gezonde personen de glucoseoxidatie met ongeveer 20% toe boven basale waarden<sup>252</sup>. De snelheid van de non-oxidatieve opslag stijgt van vrijwel nihil naar ongeveer 50%<sup>74,253</sup>. Bij het nog verder verhogen van de insulinespiegels neemt (eigenlijk) alleen nog maar de glucoseopslag toe. Deze non-oxidatieve opslagcapaciteit blijkt een zéér belangrijke regulator van de insulinegevoeligheid, zowel bij gezonden als bij diabetespatiënten. Glucoseopslag kan als een soort buffer fungeren voor de korte termijn regulatie van de glucosespiegel in het bloed. Dit proces vindt voornamelijk in de spier plaats<sup>71,254</sup>. De glucoseoxidatieca-

paciteit raakt, zoals uit het voorgaande reeds kon worden vermoed, bij gezonde personen reeds verzadigd bij hoog fysiologische insulineconcentraties (97 mE/l en euglycemie). Boven die niveaus (glucose en/of insuline) is er alleen nog sprake van een toename in de glucoseopslag<sup>255</sup>. De perifere glucoseoxidatie wordt door twee determinanten gestuurd: de glucoseconcentratie (in positieve zin) en de vrije vetzuurconcentratie (in negatieve zin). Verhoogde vrije vetzuurspiegels verminderen de glucoseoxidatie (theorie van Randle<sup>256</sup>, voor de skeletspier vele jaren later bevestigd<sup>257</sup>). Van de effecten van insuline op glucoseoxidatie en glucoseopslag is de invloed op de laatste (opslag) dus de belangrijkste. Bij maximale (pharmacologische) insulinstimulatie stijgt de glucoseoxidatie niet boven 2.5-3.0 mg/kg/min terwijl de totale lichaamsglucoseopname wel kan toenemen tot 10-20 mg/kg/min. Zowel glucoseoxidatie als glucoseopslag zijn gecorreleerd aan de glucoseopname, maar bij de opslag is dat duidelijker dan bij de oxidatie. Dit is logisch te verklaren door de snelle verzadiging van de oxidatie in vergelijking met de opslag capaciteit. Bij vergelijking van relatief lage insulinetoevoer (40 mE/m<sup>2</sup>/min, insulinespiegel 113 mE/l) met hoge insulinetoevoer (400 mE/m<sup>2</sup>/min, insulinespiegel 1839 mE/l) bij gezonde, meer en minder obese personen met een ongestoorde glucosetolerantie, bleek dat er tijdens lage insulinetoevoer bij de meest insulineresistente personen (glucoseopname rond 2.2 mg/kg/min vetvrije lichaamsmassa) geen glucoseopslag meer plaats had, terwijl bij de insulinegevoelige personen (glucoseopname groter dan 7.0 mg/kg/min) 47% van de glucoseopname het gevolg was van glucoseopslag. Bij de hoge insulinetoevoer bleek verder dat 70-75% van het verschil in glucoseopname tussen de groepen het gevolg was van dat verschil in glucoseopslag. Ook was er, zowel bij de lage als bij de hoge insulinetoevoer, een negatieve relatie tussen de graad van vetzucht en respectievelijk de glucoseopname, glucoseoxidatie en glucoseopslag. Een onvermogen om de glucoseopslag te doen toenemen is dus bij normale personen een zéér belangrijke factor die de in vivo insulinegevoeligheid bepaalt<sup>253</sup>. Ook bij patiënten met type II diabetes speelt dit mechanisme een rol. Als meest afwijkende bevinding wordt dan ook bij type II patiënten een verminderde opslagcapaciteit vastgesteld. Indien de diabetes ernstiger wordt ontstaat er vaak ook een verminderde oxidatiecapaciteit<sup>258,259</sup>.

Ook slechts kortstondige overvoeding (gedurende 2 weken 62% kcal meer; gewichtstoename 3.0 kg) leidt al tot insulineresistentie<sup>131</sup>. De glucoseopname daalt ten opzichte van tevoren secundair aan een afneming van de glucoseopslag. Overvoeding leidt ook tot een afneming van de glycogeensynthetaseactiviteit in de spier. Alles bij elkaar genomen is er dus een verband tussen (koolhydraat)overvoeding of een hyperinsulinemische "clamp" enerzijds en afneming van de glucoseopname, afneming van de glycogeensynthetaseactiviteit en verhoging van de insulineconcentratie anderzijds<sup>131</sup>. Wetende dat 60-70% van de bij een "clamp" geïnfundeerde glucose verschijnt als spierglycogeen ziet men dat de insulinegevoeligheid zeer sterk wordt bepaald door het biochemische pad tussen glucose in het bloed en glycogeen als (voorlopig) eindproduct<sup>260</sup>.

Mogelijke directe regulatoren van de glucoseopslag zijn: 1. De skeletspier voor glycogeenopslag<sup>71,74,254</sup> (zeer waarschijnlijk door de grote "pool") 2. De lever voor glycogeen opslag<sup>75,261</sup> (minder belangrijk) 3. Membraantransport als regulator<sup>89</sup> 4. Glycogeen synthetase<sup>140,141,142</sup> 5. Bloedstroom door de spier 6. Het type spier<sup>262</sup> en tenslotte 7. Expansie van het glucoseverdelingsvolume secundair aan de voorgaande punten<sup>35</sup>.

Er is ook een relatie tussen insulineresistentie en vrije vetzuren. Bij type II diabetes is er een verband tussen de door insuline gestimuleerde glucoseopname en vrije vetzuurspiegels<sup>263</sup>. De suppressie van insuline op vrije vetzuurspiegels is verhoudingsgewijs groot bij lage insulinespiegels, terwijl de stimulering van de glucoseopname verhoudingsgewijs ook nog hoog is bij reeds hoge insulinespiegels. Kennelijk is de suppressie van vrije vetzuren een proces dat zich in een betrekkelijk nauw traject afspeelt. De basale vrije vetzuurspiegels zijn bij type II diabetes ook verhoogd en vertonen evenals de glucoseconcentraties een relatie met de glucagonspiegels<sup>264</sup>. Dit kan er op wijzen dat het samengaan van insulineresistentie en verhoogde vrije vetzuurspiegels niet noodzakelijkerwijs op een direct causaal verband behoeft te wijzen, maar dat ook verhoogde glucagonspiegels er een rol bij zouden kunnen spelen. Ook type I patiënten hebben (chronisch) verhoogde basale vrije vetzuur- en beta-hydroxyboterzuurspiegels<sup>218,265</sup>. Dit kan een toegenomen vrije vetzuuroxidatie in de spier ten gevolge hebben. Remming van het pyruvaatdehydrogenase is hiervan het gevolg. Dit enzym is van groot belang bij de glucoseoxidatie. Het gevolg is dat in de spier glucoseopname en secundair daaraan glucoseoxidatie afnemen ("fatty acid cycle"<sup>256,266,267</sup>). Verder gaat één en ander gepaard met een toeneming van de NADH/NAD en acetyl CoA/CoA ratio's, waardoor er accumulatie optreedt van citraat. Citraat remt phosphofructokinase en dit veroorzaakt een vermindering van de glycolyse. Accumulatie van glucose-6-fosfaat kan daar dan weer het gevolg van zijn. Verhoging van glucose-6-fosfaatconcentratie remt hexokinase en dit geeft een verminderde glucoseopname in de spier. Ook infusie van vrije vetzuren leidt tot vermindering van glucoseopname<sup>268,269</sup>. De vermindering van de opname is dan het gevolg van zowel een reductie in de glucoseoxidatie als de glucoseopslag. Ook bij infusie van Intralipid<sup>®</sup> werd een sterk negatieve correlatie gevonden tussen de vrije vetzuurspiegels en glucoseoxidatie ( $r=0.95$ ) of glucoseopslag ( $r=0.90$ )<sup>268</sup>.

Naast de effecten van insuline op het vrije vetzuurmetabolisme en de gevolgen daarvan voor de insulinegevoeligheid, zijn er ook nog separate effecten van glucose zelf op het vrije vetzuurmetabolisme en (dus indirect) op de "insulinegevoeligheid". Glucose vermindert vetmobilisatie waardoor in het bloed een daling van de vrije vetzuurspiegels optreedt. Dit is waarschijnlijk het gevolg van zowel remming van lipolyse<sup>256</sup> als van stimulatie van reësterificatie van vetzuren<sup>270</sup>. Over de vraag welke van beide effecten de belangrijkste is heeft nogal wat verschil van mening bestaan. Soms werd er gevonden dat er nauwelijks sprake was van onderdrukking van lipolyse op grond van verhoogde glycerolspiegels. Vrij gekomen glycerol in een adipocyt kan niet direct weer geïncorporeerd worden in de synthese van triglyceriden. Daardoor is de glycerolafgifte een directe maat voor lipolyse<sup>271</sup>, in tegenstelling tot de vrijmaking van vrije vetzuren die een maat is voor zowel de snelheid van de reësterificatie als voor de snelheid van de lipolyse. Andere auteurs vonden echter dat glucoseinfusie (met en zonder somatostatineblokkade van de insulineafgifte) wél de glycerolconcentratie verlaagde. Dit duidt dus op een verminderde afgifte van glycerol en dus op een verminderde lipolyse. Recent werd overtuigend aangetoond dat beide processen toch een rol spelen bij de effecten van glucose op het vetmetabolisme<sup>272</sup>. De effecten van de glucoseinfusie op de "rate of appearance" van glycerol en vrije vetzuren bleken dosis afhankelijk. Bij infusie van zéér grote hoeveelheden glucose (8 mg/kg/min) bleek dat de glycerol "appearance" niet meer veranderde, terwijl de vrije vetzuren "appearance" nog steeds door daalde



("tracer"-studie). Naast de suppressie van vrije vetzuren door glucose en de invloed daarvan op de glucosetolerantie<sup>256</sup> is er ook aangetoond dat verlaging van de vrije vetzuurspiegels de glucoseafgifte van de lever lijkt te verhogen<sup>273</sup>.

## 7. GLUCOSEPRODUCTIE EN GLUCOSEUTILISATIE.

De glucoseproductie van de lever is bij normale personen in (post-absorptieve) toestand ongeveer  $74 \pm 4$ , bij personen met verminderde glucosetolerantie  $82 \pm 7$ , bij non-obese type II patiënten  $139 \pm 24$  en bij obese type II patiënten  $126 \pm 16$  mg/m<sup>2</sup>/min<sup>274</sup>. Niet-obese gezonde personen hebben, uitgedrukt in mg/m<sup>2</sup>/min, een ongeveer even grote basale glucoseafgifte door de lever als wel obese personen. Doet men dit in mg/kg/min, dan is de waarde bij niet-obese personen veel hoger ( $\pm 2,0$  tegen  $1,4$ ). De post-absorptieve glucoseproductie is bij een stabiele glucosespiegel gelijk aan de glucoseutilisatie, omdat de lever in die situatie geen glucose opneemt<sup>261</sup>. De grootte wordt meestal opgegeven in de orde van  $1.9-2.2$  mg/kg/min<sup>102,188,274,275,276</sup>.

De totale lichaamsglucoseopname neemt gedurende een "glucose clamp" nog ongeveer 5 uur in geringe mate toe. Een volledige suppressie van de glucoseproductie wordt (bij insulinespiegels van  $\pm 100$  mE/l) in 20 min bereikt. Het is niet geheel duidelijk of dit langzaam toenemende effect van insuline het gevolg is van een trage uitwisseling tussen insulinecompartimenten, enzym inductie of een "echte" toeneming van de insulinegevoeligheid.

De dosis-werkings-curves bij normale personen tussen insuline enerzijds en de glucoseopname of de suppressie van de glucoseproductie anderzijds verschillen sterk. De half maximale insulinespiegels voor de glucoseopname ( $K_m$ ) zijn ongeveer 120 mE/l (DeFronzo), 130 mE/l (Kolterman), 55 mE/l maar na correctie 90 mE/l (Rizza). De half maximale insulinespiegels voor suppressie van de glucoseproductie ( $K_m$ ) zijn 46 mE/l (DeFronzo), 33 mE/l (Kolterman) en 29 mE/l (Rizza)<sup>75</sup>. Voor obese personen ligt de  $K_m$  voor glucoseopname op  $\pm 210$  (bij verminderde insulinegevoeligheid) of  $\pm 370$  mE/l (bij een beperkt maximaal insuline-effect). Het maximale insuline-effect ( $V_{max}$ ) wordt bij gezonde personen zeker bereikt bij insulinespiegels van ongeveer 1000 mE/l, maar waarschijnlijk is het al aanwezig bij 200-500 mE/l. Bij gezonden is de maximale glucoseopname in die situatie 10-11 mg/kg/min<sup>276</sup>.

In diverse studies wordt waarschijnlijk gemaakt dat de basale glucoseproductie bij type I diabetes normaal is<sup>123,182,205</sup>, maar wellicht zegt dit meer over de behandeling dan over de glucoseproductie. Het is ook mogelijk dat het (bij deze studies vaak gebruikte) somatostatine een vals normale supprimeerbaarheid van de glucoseproductie induceert, die echter in de praktijk niet aanwezig blijkt ten gevolge van de bij type I diabetes vaak aanwezige verhoogde glucagon concentratie<sup>277</sup>.

## 8. INDELING VAN SOORTEN GLUCOSEPRODUCTIE EN UTILISATIE.

De totale lichaamsglucoseopname ("total body glucose disposal") is gelijk aan de exogene glucosetoevoer (glucosebehoefte), indien er geen sprake is van glucoseproductie (met name door de lever). Is dat wel het geval, dan is de hoeveelheid glucose die bij een clamp geïnfundeerd wordt (en die de glucosebehoefte wordt genoemd) gelijk aan de perifere glucoseutilisatie verminderd met de glucoseproductie. Zonder gebruik te maken van een "tracer" is de glucoseproductie niet te meten. Indien insulinespiegels van 100 mE/l worden bereikt, dan is er zekerheid dat de glucoseproductie bij gezonde personen voor meer dan 95% gesupprimeerd is<sup>261</sup>.

De glucoseutilisatie kan men onderverdelen in een deel dat onafhankelijk is van stimulatie door insuline en een deel dat er wel afhankelijk van is<sup>88</sup>. Ook zonder aanwezigheid van insuline is er namelijk nog glucoseutilisatie mogelijk. Hoewel de onderverdeling van de glucoseproductie in een van insuline afhankelijk en een van insuline onafhankelijk deel in theorie mogelijk is is dit niet zinvol. Zonder insuline is er namelijk altijd maximale glucoseproductie. Interessanter is dan de vraag in hoeverre een deel van de suppressie van de glucoseproductie onafhankelijk is van insuline, met andere woorden tot welk niveau van glucoseproductie de lever maximaal supprimeerbaar is door insuline. Hierover bestaat echter geen onzekerheid omdat er in normale omstandigheden altijd suppressie mogelijk is. Bij continue en hoge concentraties van contraregulerende hormonen is het echter wél voorstelbaar dat een deel van de glucoseproductie van insuline onafhankelijk is.

Een min of meer analoge indeling, die verderop nog uitvoerig aan de orde komt, is die waarbij of de totale lichaamsglucoseopname, of de glucoseutilisatie of de glucosebehoefte (dit proefschrift) onderverdeeld worden in een wél van de glucosespiegel afhankelijk deel en een deel dat onafhankelijk is van de hoogte van de glucosespiegel. Bij het gebruik van de glucosebehoefte kan men bij het veranderen van variabelen gedurende een "clamp" niet de absolute grootte vaststellen van elk van de eerder genoemde parameters; alleen de omvang van de gesummeerde veranderingen in die parameters is na te gaan.

## 9. MEET- EN BEREKENINGSMETHODE VAN INSULINE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEUTILISATIE.

De "onafhankelijke" delen van het glucosemetabolisme worden berekend door extrapolatie naar nul van de lijn die de relatie weergeeft tussen de glucoseutilisatie of de glucoseopname of de "rate of disappearance" of de glucosebehoefte met de te variëren parameter (glucose of insuline) (Zie Hoofdstuk 5).

Diverse auteurs maken gebruik van een model waarin één deel van de glucoseopname een lineair verband heeft met de plasmaglucosespiegel. Het andere deel van de glucoseopname is constant en is dus geheel onafhankelijk van de glucosespiegel<sup>50,180,278,279</sup>. De omvang van het constante deel wordt niet bij elk experiment bepaald. Glucoseopname door de hersenen lijkt de belangrijkste component van zowel de glucose onafhankelijke glucoseutilisatie als van de insuline onafhankelijke glucose-

utilisatie. Er zijn argumenten aan te voeren tegen de stelling dat de glucose onafhankelijke glucoseutilisatie onder alle omstandigheden gefixeerd is. In de eerste plaats is de  $K_m$  van de glucoseopname van de hersenen waarschijnlijk ongeveer  $\pm 100$  mg/dl. De glucoseopname van de hersenen kan daarom bij fysiologische glucoseconcentraties in het plasma niet als constant worden beschouwd. In de tweede plaats pleit tegen het bestaan van een gefixeerde component over een (groot) traject van glucoseconcentraties de waarneming dat alle denkbare weefsels wel in meerdere of mindere mate saturatiekinetiek vertonen. Verder geldt voor zowel de glucose- als de insuline onafhankelijke glucoseopname dat er (waarschijnlijk schijnbare) stoornissen zijn gevonden in het glucosetransportsysteem bij zowel obesitas als bij diabetes mellitus. Of dit reële of schijnbare transportstoornissen zijn door een metabool ("er achter liggend") post-receptordefect doet hier niet zoveel ter zake, maar het belangrijkste is dat saturatie van de glucoseverwerking mogelijk is. Ook daarom is het aannemen van een "standaard gefixeerde opname" in principe niet geoorloofd. De besproken voorstelling van zaken is weer te geven als<sup>280</sup>:

$$R_{dh} = (G_h/G_l) \times (R_{dl} - R_{df}) + R_{df}$$

waarbij  $R_{dh}$  = de "rate of disappearance" bij de hoge glucoseconcentratie,  $R_{dl}$  = de "rate of disappearance" bij de lage glucoseconcentratie,  $G_h$  en  $G_l$  respectievelijk de hoge en de lage glucoseconcentratie en  $R_{df}$  = de gefixeerde (glucose onafhankelijke) "rate of disappearance".  $R_{df}$  wordt geacht constant te zijn en tevens altijd van gelijke grootte ( $\pm 1$  mg/kg/min =  $\pm 40$  mg/m<sup>2</sup>/min).

## 10. MICHAELIS-MENTEN KINETIEK EN GLUCOSEVERWERKING.

Zowel totale lichaamsglucoseopname als glucoseutilisatie worden bepaald door een gefaciliteerd glucosetransport dat beschreven kan worden in de termen van Michaelis-Menten kinetiek<sup>88,89,90,97,281</sup>. Als het metabolisme van een weefsel echter verzadigd raakt, heeft de glucoseconcentratie géén invloed meer op de transportsnelheid. Dit wekt dan de indruk dat er géén sprake meer is van Michaelis-Menten kinetiek. Dit fenomeen is voor hersenweefsel (reeds) beschreven<sup>282</sup>. Het transport van glucose naar de hersenen is in normale omstandigheden relatief (!) onafhankelijk van zowel de insuline<sup>283</sup> als de glucosespiegel.

De belangrijke invloed die de insulinespiegel heeft op de maximale glucoseopname blijkt wel uit de waarneming (bij normalen) dat glucoseopname bij zeer lage insulinespiegels ( $<5$  mE/l) en een glucoseconcentratie boven 180 mg/dl niet meer meetbaar stijgt<sup>284</sup>. Bij hogere insulinespiegels is dit pas het geval bij glucoseconcentraties van  $\pm 450$  mg/dl<sup>201,285</sup>. De verklaring hiervoor is dat het glucosetransport in deze situaties "rate limiting" is. Het insuline-effect komt tot stand door verhoging van de  $V_{max}$ . De insulinespiegel heeft geen invloed op de  $K_m$  (10 mM) van de glucoseopname<sup>88,90,95,108,286,287</sup>. Het duidelijke effect van insuline op de  $V_{max}$  blijkt uit de volgende getallen. Bij stijgende insulineconcentraties van 0 (via retropolatie uit de volgende insulinespiegels gevonden), 20, 80 en 160 mE/l loopt de  $V_{max}$  op van 5.2, via 6.4 via 18.5 naar 26.8 mg/kg/min<sup>88</sup>.

## 11. NIET VAN INSULINE AFHANKELIJKE GLUCOSEUTILISATIE BIJ GEZONDEN.

De niet van insuline afhankelijke glucoseutilisatie representeert voornamelijk de glucoseopname van hersenen, milt, niermerg, long, huid, splanchnicus gebied, erythrocyten en leucocyten<sup>288</sup>. In deze rij zijn de hersenen verreweg de belangrijkste. Andere hormonen, zoals adrenaline en cortisol, blijken óók geen invloed op de niet van insuline afhankelijke glucoseutilisatie te hebben (maar wél op de door insuline gemediëerde glucoseopname)<sup>289</sup>. De omvang van de insuline onafhankelijke glucoseopname is uit diverse studies bekend: 1.62<sup>88</sup>, 1.53<sup>290</sup>, 1.59<sup>291</sup> en 1.70<sup>102</sup> mg/kg/min. De niet van insuline afhankelijke glucoseopname van "non-hersen weefsels" bij gezonden in basale omstandigheden bedraagt slechts 0.2 mg/kg/min<sup>74</sup>.

De invloed van de glucoseconcentratie op de insuline onafhankelijke glucoseopname blijkt uit het oplopen daarvan met de glucoseconcentratie. Bij glucoseconcentraties van respectievelijk 65, 95 en 160 mg/dl blijkt de insuline onafhankelijke glucoseopname respectievelijk 1.30, 1.62 en 2.59 mg/kg/min te zijn<sup>88</sup>. De effecten van de glucoseconcentratie (massaeffect) hebben met name invloed op de glucoseutilisatie<sup>278</sup>, de glucoseproductie<sup>176,261,292</sup>, maar ook op netto glucoseretentie in het splanchnicus<sup>293</sup> gebied.

In slechts enkele studies is de bijdrage van de niet door insuline gemediëerde glucoseopname (gelijktijdig) vergeleken met de totale lichaamsglucoseopname<sup>88,294,295</sup>. Gottesman komt op 75-85% van de totale lichaamsglucoseopname voor gezonde personen<sup>88</sup> en Baron op 70% voor type II diabetespatiënten in basale toestand. De niet van insuline afhankelijke glucoseutilisatie is dus duidelijk de belangrijkste factor in de post-absorptieve glucoseopname<sup>88,102,274,296</sup>, terwijl met name bij type II patiënten de absolute hoeveelheid nog veel groter is (door de hogere glucosespiegels)<sup>297</sup>.

## 12. NIET VAN INSULINE AFHANKELIJKE GLUCOSEUTILISATIE BIJ TYPE II DIABETES MELLITUS.

Bij type II diabetes is aangetoond dat de (wel) door insuline gestimuleerde glucoseopname nog verder is beperkt dan tot voor kort werd gedacht en dat dus ook het aandeel van de niet van insuline afhankelijke opname nog veel groter is dan werd aangenomen<sup>298</sup>. In (eigenlijk) alle hierop betrekking hebbende experimenten wordt namelijk de door insuline gestimuleerde glucoseopname vergeleken met die in een basale situatie. Een assumptie bij deze experimenten is dat in een basale situatie de niet door insuline gestimuleerde opname relatief gering is ten opzichte van de op dat moment aanwezige door insuline gemediëerde glucoseopname. Dit blijkt echter niet het geval te zijn. Bij vergelijking van gezonden en type II patiënten bij insulineconcentraties van 6 en 60 mE/l (onder somatostatine en met exogene insulineinfusie) blijkt de door insuline gestimuleerde glucoseopname gering te zijn. De type II patiënten stijgen onder invloed van insulineverhoging de glucoseopnames van 83 naar 121 en bij gezonden van 90 naar 274 mg/m<sup>2</sup>/min (bij 180 mg/dl). Het insuline-effect bij de type II patiënten was dus slechts 20% van normaal en de door insuline gestimuleerde glucoseopname was slechts 31% van de totale opname. Dus in de basale glucoseopname valt het verschil tussen type II patiënten en gezonden niet zo op, maar dat is des te meer het geval in een door

insuline gestimuleerde toestand. Proportioneel wordt hier dus de totale lichaamsglucoseopname in hoge mate bepaald door het niveau van de glucosespiegel. Er zijn echter aanwijzingen dat afgezien van de stoornis in de door insuline gemediëerde glucoseopname er ook nog afwijkingen zijn in de niet van insuline afhankelijke glucoseutilisatie. Dit werd in (uit type II patiënten) geïsoleerde adipocyten gevonden<sup>29</sup>.

### **13. GLUCOSEUTILISATIE VAN DE HERSENEN ALS ONDERDEEL VAN DE NIET VAN INSULINE AFHANKELIJKE GLUCOSEUTILISATIE.**

De werkelijk gemeten (niet berekende) glucoseutilisatie van de menselijke hersenen is 1.2-1.3 mg/kg/min<sup>300,301,302</sup>. De glucoseutilisatie van de hersenen neemt in de post-absorptieve toestand ongeveer 50% van de totale glucoseutilisatie in<sup>302</sup>. Het is logisch dat dit aandeel, ook in absolute zin, bij diabetes patiënten (door de bestaande hyperglycemie), nog groter zal zijn. Het glucoseverbruik van de hersenen neemt in normale omstandigheden het belangrijkste deel van de niet door insuline gemediëerde glucoseopname in beslag<sup>300</sup>, maar dit is ook het geval voor de niet door glucose gemediëerde glucoseopname<sup>282</sup>. Meting bij lagere glucosespiegels (0-120 mg/dl) geeft echter wel een (zwakke) relatie met de glucoseconcentratie<sup>301,303,304</sup>. Deze schijnbare paradox is goed te verklaren. Onder euglycemische omstandigheden is de snelheid van het glucosemetabolisme (voornamelijk de glucosephosphorylering) 2 tot 3 maal trager dan het glucosetransport<sup>110,305</sup>. De euglycemische glucoseconcentratie ligt in de buurt van de half-maximale transportsnelheid voor glucose naar hersenweefsel (2-6 mM<sup>110</sup>, anderen 5-9mM<sup>306,307,308,309</sup>). Een lagere glucoseconcentratie geeft derhalve een sterker verband met de glucoseutilisatie, omdat het glucoseverwerkingsstelsel dan nog onverzadigd is<sup>310</sup>. Bij euglycemie is er wel al een behoorlijke mate van verzadiging aanwezig.

### **14. DE RELATIE TUSSEN GLUCOSE EN GLUCOSEUTILISATIE; GLUCOSEKLARING.**

De wél of niet aanwezige lineariteit in de relatie tussen glucoseconcentratie en glucosebehoefte (infusie snelheid van glucose om de glucoseconcentratie stabiel te houden) heeft vele auteurs bezig gehouden. Sommigen vonden dat er wel sprake was van lineariteit<sup>88,156,179</sup>, soms zelfs over zeer aanzienlijke trajecten van de glucoseconcentratie (bijvoorbeeld 100-250 mg/dl<sup>156</sup> of 62 tot 165 mg/dl<sup>179</sup>). Anderen konden echter geen lineariteit vaststellen<sup>184,275</sup>. Het blijkt dat bij een niet lineaire relatie van de glucoseconcentratie met de glucosebehoefte, ook de relatie met de glucoseproductie niet lineair is. Het netto effect van beiden vertoont dan weer wél een lineair verloop. De reden van deze grote interesse in de problematiek van (non-) lineariteit is dat de bevindingen in regelrecht verband staan met het wel of niet kunnen gebruiken van de glucoseklaring (glucosebehoefte gedeeld door glucoseconcentratie) als maat voor het vergelijken van glucosebehoeften die bepaald zijn bij ongelijke glucosespiegels. Een absolute voorwaarde voor het berekenen van deze metabole klaring van glucose is dat de klaring zelf onafhankelijk is van de glucoseconcentratie. Hoewel dit soms wel werd gevonden<sup>311</sup>, wordt dit meestal ontkend<sup>180</sup>.

De oorzaken van deze op het eerste gezicht zo tegenstrijdige resultaten zijn toch betrekkelijk gemakkelijk te verklaren. Gezien de Michaelis-Menten kinetiek van het glucosetransport, met een  $K_m$  voor glucose van ongeveer 10 mM, lijkt de relatie tussen glucosebehoefte en glucosespiegel al snel lineair te zijn, mits in de fysiologische range van de glucoseconcentraties wordt gemeten bij insulinespiegels waarbij de glucoseproductie weinig glucose afhankelijk is en het glucosetransport nog de limiterende factor. Bij veel hogere glucosespiegels lijkt de klaring af te nemen door het benaderen van  $V_{max}$  van het transport; bij veel hogere insulinespiegels kan een post-receptordefect manifest worden, waardoor de klaring afneemt<sup>275</sup>. Hierdoor is verklaarbaar dat de ene auteur bij eenzelfde glucosespiegel wel argumenten vindt voor de stelling dat de glucoseklaring betrouwbaar is en de andere niet. Het verschil is dan gelegen in (bijvoorbeeld) ongelijke insulinespiegels. In het algemeen geldt dat, hoe hoger de glucose- of insulinespiegel is, hoe groter de kans is dat de klaring te laag uitvalt. Dit komt het duidelijkst tot uiting bij patiënten met type II diabetes<sup>278,312,313</sup>. Er is gevonden dat de sterkste daling in de glucoseklaring tijdens hyperglycemie plaats heeft bij die patiënten die bij euglycemie relatief de hoogste klaring hadden<sup>313</sup>. Bij deze patiënten speelt vooral het manifest worden van een post-receptordefect. Met andere woorden: bij patiënten met een relatief hoge  $V_{max}$  van het transportsysteem (dus met geringere resistentie) is de kans het grootst dat bij hyperglycemie een post-receptordefect manifest wordt.

Concluderend kan men stellen dat op grond van het feit dat het glucosetransport voldoet aan Michaelis-Menten kinetiek er nimmer een lineaire relatie kan bestaan tussen glucoseconcentratie en glucosebehoefte, maar dat (slechts) bij metingen onder de  $K_m$  van het systeem de relatie tussen glucosebehoefte en glucoseconcentratie als lineair kan worden beschouwd. Wordt er in dit traject, bij zelfs nog fysiologische insulinespiegels, al een post-receptordefect manifest, dan gaat deze lineariteit reeds verloren.



## CONTRAREGULATIE.

Dit hoofdstuk is ingedeeld in:

1. Stabiliteit van de glucoseconcentratie.
2. Het "dawn"-fenomeen.
3. Diabetogene hormonen: glucosedrempels.
4. Hypoglycemie: beschrijving, oorzaken.
5. Diabetogene hormonen: algemene werking en interacties: glucagon, catecholaminen, groeihormoon, cortisol.

### 1. STABILITEIT VAN DE GLUCOSECONCENTRATIE.

Naast de lange-termijn-complicaties zijn de dagelijkse glucoseschommelingen met al hun onaangename neveneffecten voor de patiënt met type I diabetes het meest hinderlijk. Er zijn objectieve en subjectieve methoden om de mate van glucosestabiliteit weer te geven. Voor de eerste manier kan men van een groot aantal verzamelde glucoseconcentraties het gemiddelde en de standaarddeviatie, de variatiecoëfficiënt, het gemiddelde verschil tussen opeenvolgende maximale en minimale waarden of de "M-value van Schlichtkrull" gebruiken<sup>314</sup>. Voor de tweede manier heeft men geen glucoseconcentraties nodig; de klachten van de patiënt, ongeacht de glucosewaarden bepalen of er wel of niet sprake is van instabiliteit. Vaak wordt in dit verband de definitie van "brittleness" van Tattersall aangehaald: "the brittle diabetic is most simply defined as the patient whose life is constantly disrupted by episodes of hypo- or hyperglycaemia whatever their cause"<sup>315</sup>. De oorzaak van de glucoseschommelingen is zonder twijfel multifactorieel bepaald. Enige van deze oorzaken zullen nu worden besproken.

Een te geringe (nog resterende) endogene insulinesecretie wordt als oorzaak genoemd<sup>316,317</sup>. Er is een goede relatie tussen de stabiliteit (uitgedrukt als standaarddeviatie van glucosebepalingen) en de insuline- zowel als C-peptidereactie na een testmaaltijd<sup>318</sup>. Een nog aanwezige beta-celreserve leidt inderdaad vrijwel altijd tot een stabielere glucoseregulatie, maar een afwezige beta-celreserve leidt niet noodzakelijkerwijs tot minder stabiliteit<sup>319,320</sup>.

Er zijn talloze stoornissen in het intermediaire metabolisme die zowel oorzaak als gevolg van slechte regulatie of instabiliteit kunnen zijn. In het algemeen zouden verhoogde groeihormoonspiegels ongunstig zijn<sup>321</sup>. Verder is er een sterke correlatie tussen de geïntegreerde groeihormoonconcentratie en de mate van variatie in de 24-uurs glucoseconcentraties<sup>322</sup>. De abnormaliteit van het groeihormoon betreft zowel de omvang van amplitudo van groeihormoonoscillaties als toeneming in frequentie<sup>322</sup>. Zowel de nuchtere groeihormoonconcentratie<sup>323,324</sup> als de door inspanning gestimuleerde concentratie zijn verhoogd<sup>325</sup>. Het blijkt ook experimenteel mogelijk om bij goed ingestelde diabetespatiënten met lage groeihormoonspiegels de groeihormoonverhogingen zoals die bij slecht geregelde patiënten worden gevonden, na te bootsen. Dit leidt dan tot een slechtere regulatie met hyperglycemie en alle pathologische metabole veranderingen.

gen die daarmee annex zijn<sup>326</sup>. De ontregeling van de groeihormoonafgifte blijkt ook uit de waarneming dat instabiele type I patiënten abnormale (paradoxe) stijgingen van groeihormoon kunnen vertonen na inspuiting van TRH<sup>327</sup>. Dezelfde reactie wordt ook gezien bij enige andere ziekten die tot metabole ontregelingen leiden, zoals acromegalie, terminale nierinsufficiëntie, ernstige leverziekten en anorexia nervosa<sup>328</sup>. Bromocriptine therapie tot 7.5 mg per dag geeft geen verandering in de groeihormoon profielen bij type I diabetes<sup>329</sup>. Ook van diverse andere hormonen zijn verhoogde concentraties aangetroffen bij slecht gereguleerde patiënten. Ook dan spelen oorzaak en gevolg vaak door elkaar heen. Bij slecht gereguleerde type I patiënten is er een verhoogde geïntegreerde concentratie van noradrenaline en adrenaline. De geïntegreerde cortisolspiegels zijn niet verhoogd<sup>330</sup>. Patiënten met diabetes mellitus hebben als ongunstige en bijkomende factor vaak een toegenomen gevoeligheid voor de contraregulerende hormonen<sup>331</sup>. Diabetes patiënten zijn (zeker bij ontregeling) bijvoorbeeld gevoeliger voor adrenaline, glucagon<sup>332</sup> en cortisol<sup>332</sup>. Hoewel het mogelijk is dat dit onder hyperglycemische omstandigheden specifieke eigenschappen zijn van deze hormonen is het waarschijnlijker dat er (in tegenstelling tot gezonden) geen mogelijkheid is om de teweeggebrachte hyperglycemie met (eigen) insuline te compenseren<sup>331,333</sup>. Toch zijn er ook aanwijzingen dat, ook indien wordt zorg gedragen voor een adequate insulinebehandeling, de gevoeligheid verhoogd blijft. De glucosestijging na infusie van adrenaline of cortisol (tot spiegels zoals die bij stress worden gevonden), leidt tot een 5 à 7-voudige glucosestijging in vergelijking met die bij gezonde personen. De veranderde gevoeligheid is dan voornamelijk het gevolg van een vergrote glucoseproductie door de lever. Overigens is de reductie van de perifere glucoseklaring als gevolg van deze spiegels van cortisol of adrenaline ongeveer 25-40%<sup>331</sup>. Verstoring van de glucosehomeostase kan ook veroorzaakt worden door het Somogyi fenomeen<sup>334,335</sup>. Door sommige onderzoekers wordt echter aan het reële bestaan ervan getwijfeld<sup>336</sup>. Na een studie van Bolli lijkt het bestaan van de post-hypoglycemische hyperglycemie geen omstreden zaak meer<sup>337,338</sup>. Verder werd het fenomeen van de "cycling instability" beschreven ten gevolge van het afwisselen van hyperglycemiën en hypoglycemiën<sup>339</sup>. Het "dawn"-fenomeen, de spontane nachthyperglycemie zonder voorafgaande hypoglycemie, lijkt ook een factor van aanzienlijk belang.

Hoewel emotionele en psychiatrische problemen vaak worden genoemd als oorzaak van instabiliteit (en daarover in sommige extreme gevallen ook geen twijfel bestaat<sup>340</sup>) zijn er weinig duidelijke gegevens over emotionele problematiek als bewijsbare oorzaak van "normale" lichte instabiliteit<sup>341</sup>. Psychologische stress is vooralsnog niet een aantoonbare hyperglycemie bevorderende factor gebleken<sup>342</sup>, alle gedachten die hierover leven ten spijt. Hoewel in een experimentele opstelling het roken van tien sigaretten op korte termijn geen aantoonbare invloed heeft op de insulinegevoeligheid geeft het wel 40-100% stijgingen in de spiegels van adrenaline, glucagon, cortisol en groeihormoon<sup>343</sup>.

De menstruele cyclus wordt ook veelvuldig genoemd als oorzaak van instabiliteit. Bij niet-diabetische vrouwen is er echter geen enkele aanwijzing gevonden dat de menstruele cyclus ook maar enige invloed heeft op "insulin sensitivity", "insulin responsiveness", glucoseafgifte door de lever of specifieke binding van insuline aan monocyten<sup>344,345</sup>. Dit sluit natuurlijk een verstorende werking op de stabiliteit bij diabetische vrouwen niet uit, maar maakt de soms geclaimde sterk verstorende werking op de glu-



cosetofwisseling wel minder waarschijnlijk. Een toegenomen insulinebehoefte, zoals die in een diabetische zwangerschap wordt gezien, is niet synoniem met instabiliteit.

Ook de insulinebehandeling zelf kan forse glucoseschommelingen veroorzaken. In het algemeen zou overinsulinisatie glucoseschommelingen in de hand werken<sup>346,347</sup>. Er kan sprake zijn van onvoorspelbare absorptie van de subcutane insulinedepots<sup>348</sup>. Soms is er afwezigheid van een normale hyperemie dicht bij de injectie plaats<sup>349</sup>. Insuline-antilichamen kunnen de insulinewerking (ongewenst) verlengen<sup>350,351</sup>. Een geleidelijk aan teruglopende nierfunctie ten gevolge van diabetische nefropathie verlaagt de insulineklaring, terwijl gelijktijdig de perifere insulinegevoeligheid afneemt.

Een gestoorde contraregulatie is wellicht toch één van de belangrijker factoren bij patiënten met type I diabetes mellitus<sup>310,352</sup>. De meest op de voorgrond staande (pathologische) processen in de contraregulatie bij type I diabetes mellitus zijn de gestoorde hormonale contraregulatie, het niet voelen van hypoglycemie, de post-hypoglycemische hyperglycemie, het "dawn"-fenomeen en de stress hyperglycemie (plus de daarmee samenhangende ketose). Uitval van glucagon is in eerste instantie de belangrijkste stoornis in de contraregulatie. Aangezien deze stoornis al frequent optreedt in het begin van de ziekte vormt adrenaline dan het belangrijkste wapen in de strijd tegen een hypoglycemie. Hierop zal verderop in dit hoofdstuk uitvoeriger worden ingegaan (zie ook Hoofdstuk 2).

Verder blijkt de glucosespiegel een "feed back"-relatie te hebben met diverse glucoseconcentratie verhogende processen waaronder lever glucoseproductie (zonder hormonale effecten) en afgifte van diabetogene hormonen. Ook hierop zal later nog worden ingegaan.

Het blijkt dat langdurige normoglycemie veel van de beschreven pathologische processen kan normaliseren of op z'n minst kan doen verbeteren. Nog afgezien van de waarschijnlijk gunstige effecten op late complicaties<sup>353,354,355,356,357</sup> is het ook voor de verbetering van de kwaliteit van het (dagelijks) leven van de patiënt de moeite waard om te streven naar normoglycemie. Nu er de laatste jaren betere mogelijkheden voor behandeling zijn ontstaan<sup>358,359</sup> lijkt dit doel dan ook voor de meeste patiënten binnen bereik te komen.

## 2. HET "DAWN"-FENOMEEN.

Het "dawn"-fenomeen<sup>360</sup> is de, voor het eerst bij patiënten met type I diabetes mellitus opgemerkte, stijging van de glucoseconcentratie in de nacht. Het fenomeen wordt per definitie niet veroorzaakt door een voorafgaande hypoglycemie. In dat geval spreekt men van het Somogyi-effect<sup>334</sup>. Vindt men overdag een hyperglycemie, terwijl ervoor een hypoglycemie heeft plaats gevonden, dan spreekt men van een post-hypoglycemische hyperglycemie<sup>361</sup>.

De praktische betekenis van het "dawn"-fenomeen is dat de verhoogde nuchtere glucosespiegel bijdraagt aan de problematiek van de glucoseregulatie. Er is immers tijdens hyperglycemie sprake van relatieve hypoinsulinemie en de voor correctie hiervan benodigde extra hoeveelheid insuline geeft vaak later in de ochtend een "overshoot": het gevolg is een hypoglycemie. De oorzaak van de hyperglycemie is vooral gelegen in een toename van de nachtelijke glucoseproductie die te hoog is ten opzichte van de glu-

coseutilisatie. Het gevolg daarvan is een bloedsuikerstijging. De logisch daarop volgende vraag is die naar de oorzaak van de toeneming in de glucoseproductie van de lever. Hiervoor worden vele mogelijke verklaringen aangedragen maar een consensus erover is nog niet bereikt. Enkele van de verklaringen worden nu besproken.

Er is een met de slaap geassocieerde stijging in de groeihormoonconcentratie<sup>362</sup>. Deze wordt veroorzaakt door groeihormoonpieken in de voornacht, die worden verondersteld door hun relatief late effecten, hyperglycemie in de nanacht te veroorzaken. Niet geheel bevredigend is dan dat het belangrijkste effect van groeihormoon het verminderen van de perifere glucoseutilisatie is, terwijl juist de toegenomen glucoseproductie bij het "dawn"-fenomeen op de voorgrond staat. Toch is het suggestief dat ook bij gezonde vrijwilligers het "dawn"-fenomeen is te voorkomen door infusie van somatostatine. Dit hormoon blokkeert de groeihormoonafgifte. Door het in een vervolg-experiment toedienen van groeihormoonpulsjes die de normale groeihormoonpieken in de vóornacht nabootsen keert, tijdens de somatostatine-infusie nog steeds, het "dawn"-fenomeen weer terug (door toeneming van glucoseproductie en afneming van utilisatie)<sup>363</sup>. Deze pieken van groeihormoon worden daarom momenteel voor de meest waarschijnlijke oorzaak van het "dawn"-fenomeen gehouden<sup>363,364</sup>. Een ander argument voor het belang van de rol van groeihormoon is dat bij gezonde oudere personen het "dawn"-fenomeen niet aantoonbaar is, terwijl ook van het senium bekend is dat de nachtelijke groeihormoon pieken afwezig zijn<sup>365</sup>. Hierbij past ook dat het "dawn"-fenomeen bij personen met een geïsoleerde groeihormoondeficiëntie niet kon worden aangetoond<sup>366</sup>. Niet alle auteurs onderschrijven echter de groeihormoonhypothese<sup>364,367</sup>.

Sommige onderzoekers zoeken de oorzaak van het "dawn"-fenomeen meer in de aan insulinerewerking gerelateerde mechanismen. Er is een circadiane wisseling in insulinegevoeligheid bekend bij zowel normalen als bij diabetes patiënten<sup>368,369</sup>. Deze wisseling zou de in de nanacht toegenomen insulineresistentie kunnen veroorzaken (misschien wel secundair aan groeihormoonpieken) en de glucosestijging kunnen verklaren. Er is ook geopperd dat de groeihormoonpieken tezamen met deze circadiane insulineresistentie de glucosestijging veroorzaken. Er is gevonden dat de omvang van het "dawn"-fenomeen gelijk is bij diabetes patiënten met een lage insulineantilichaamtiter en gezonde personen, maar verschillend is van die bij diabetespatiënten met een verhoogde antilichaamtiter<sup>370</sup>. De ook als oorzaak aangeduide toegenomen insulineklaring in de nanacht is wat in discrediet geraakt, doordat diverse studies gecompromitteerd werden door het feit dat er ten gevolge van insulineverlies in de infusiesystemen geen constante toevoer van insuline naar de proefpersonen bleek te zijn<sup>371</sup>. Dit gaf daarom ten onrechte de indruk van een toegenomen insulineklaring<sup>372</sup>. Ook het leeg raken van de subcutane depots met insuline, waardoor de insulinespiegels dalen, wordt als verklaring aangegeven<sup>338,373</sup>. Daartegen pleit dat ondanks continue subcutane insulineinfusie (met gelijkblijvende nachtelijke insulinespiegels) het "dawn"-fenomeen soms toch waarneembaar blijft<sup>374</sup>.

Ook blijkt de glycogeenconcentratie die 's nachts in de lever aanwezig is een medebepalende factor te zijn<sup>375</sup>. De nuchtere (post-absorptieve) glucoseproductie kan  $\pm 33\%$  groter zijn na een hypercalorische dag voorafgaande aan het experiment dan na een hypocalorische dag tevoren<sup>376</sup>. Dit berust waarschijnlijk op een toegenomen glycogenolyse door glucagon.

Het "dawn"-fenomeen is ook aanwezig bij type II patiënten, ongeacht of ze wel of niet met insuline worden behandeld<sup>377</sup>. Ook bij gezonde personen is het "dawn"-fenomeen waar te nemen<sup>378</sup>, hoewel dit ook wel wordt ontkend<sup>366</sup>. Het aanwezig zijn van het "dawn"-fenomeen bij gezonden wil niet zeggen dat er dan ook reeel een glucosestijging waarneembaar is. Er is toegenomen glucoseproductie en verminderde glucoseutilisatie die volledig wordt gecompenseerd door verhoogde insulineafgifte. Dit laatste is meetbaar en vormt indirect het bewijs voor de stelling.

Er is ook twijfel uitgesproken over de aan de 24 uurs-klok gerelateerde oorzaken van het "dawn"-fenomeen aangezien het "dawn"-fenomeen ook als "dusk"-fenomeen kan worden opgewekt<sup>376</sup>. Het blijkt dat naarmate er langer wordt gevast de insulineresistentie toeneemt. Het gevolg is dat de glucosespiegel, gedurende enige uren althans, hoger wordt. Dit gebeurt in het algemeen uiteraard in de nacht, maar het is er dus niet specifiek voor. Het fenomeen is niet elke nacht waarneembaar<sup>377</sup> zodat er klinisch moeilijk peil op te trekken valt.

### 3. DIABETOGENE HORMONEN: GLUCOSEDREMPELS.

De glucoseconcentratie in het bloed, waarbij er voor het eerst een stijging in de concentratie van een contraregulerend hormoon is waar te nemen, wordt de glucosedrempel voor dat hormoon genoemd. Er is naar de hoogte van de diverse drempels nog maar betrekkelijk weinig onderzoek gedaan, ondanks het feit dat er een aantal interessante pathofysiologische en mogelijk ook klinisch relevante mechanismen bij betrokken lijken te zijn. Over de waarde van alle tot op heden gesuggereerde factoren die van invloed zijn op de drempels, bestaat nog wel enige onzekerheid. Factoren die mogelijk van invloed zijn op de drempels, zullen nu worden besproken.

De absolute hoogte van de glucoseconcentratie in het bloed speelt ongetwijfeld een rol bij afgifte van contraregulerende hormonen. Belangrijker lijkt echter dat de echte stimulatie van de contraregulatie zich afspeelt op cellulair niveau ("de cel-suiker"). Een duidelijke illustratie van deze stelling is de waarneming dat infusie van 2-deoxy-d-glucose leidt tot hyperglycemie. De stof is een competitieve remmer van het glucosemetabolisme<sup>379</sup> en geeft daarom intracellulaire glucopenie. Dit prikkelt de sympathicus en dit leidt weer tot glucoseproductie door de lever. Na een sympatectomie werkt dit mechanisme niet meer en stijgt de glucosespiegel niet<sup>380</sup>. Ook bij neuroglycopenie zal dit fenomeen waarschijnlijk een rol spelen. Aangezien intracellulaire glucopenie vooralsnog niet meetbaar is zullen we verder weer de glucosespiegel in het bloed als referentie aanhouden. Een argument voor het belang van de absolute glucosehoogte is het feit dat het bij gezonde vrijwilligers niet lukt om tijdens een insuline-hypoglycemietest een contraregulatie-respons uit te lokken door het induceren van een zeer snelle glucosedaling, noch door het forceren van een daling met een zeer grote omvang (uiteraard boven het hypoglycemische gebied). Alleen onder een bepaald absoluut glucoseniveau komt er contraregulatie op gang<sup>381</sup>. Meerdere auteurs zijn deze mening toegeedaan. Sommigen stellen zelfs dat de hoogte van de contraregulatie respons een omgekeerde functie is van de absolute hoogte van de glucoseconcentratie<sup>382</sup>. Soms is er wel gevonden dat de snelheid van glucosedaling een relatie heeft met de snelheid waarmee hypoglycemische symptomen optreden<sup>383</sup>. Er is dan sprake van een drempel voor sympto-

men in plaats van voor hormoonsecretie. Bij patiënten met diabetes mellitus type I werd bijvoorbeeld gevonden dat de glucosedrempels voor symptomen verhoogd zijn ten opzichte van die van normale personen (87 tegen 53 mg/dl)<sup>384</sup>. Er zijn echter ook aanwijzingen dat de grootte van de glucosedaling (delta glucose) wel een rol speelt bij afgifte van contraregulerende hormonen. Bij normale personen werd namelijk gevonden dat verlaging van de glucosespiegel van 200 naar 100 mg/dl een verhoging van de groeihormoonspiegels kon uitlokken<sup>385</sup>. Ook bij type I diabetes patiënten kan een grote glucosedaling in het niet hypoglycemische gebied soms wel degelijk een contraregulatierespons uitlokken (die onafhankelijk lijkt van de snelheid van de daling). Bij een daling van  $\pm 200$  naar  $\pm 100$  mg/dl werd bij 9 patiënten het volgende waargenomen: Bij 8 een groeihormoonpiek, bij 5 een cortisolpiek, bij 6 een adrenalinepiek en bij 5 een noradrenalinepiek (dit laatste kan theoretisch ook het gevolg zijn van een geringe daling in het plasmavolume, die een insulinebolus veroorzaakt<sup>386</sup>)<sup>387</sup>. Er was geen glucagonreactie. Bij gezonde personen wordt de secretie van zoveel hormonen tegelijk niet waargenomen. In een andere studie<sup>388</sup> werd bij type I diabetes patiënten bij verhoogde glucoseconcentraties (daling van van 350 naar 100 mg/dl) een stijging gevonden van noradrenaline, groeihormoon en cortisol en een daling van glucagon<sup>389</sup>. De hiervoor genoemde studies bij de type I diabetes patiënten zijn als volgt te interpreteren. Het is voorstelbaar dat bij diabetes mellitus het "set point" voor de afgifte van contraregulerende hormonen een "resetting" naar boven heeft ondergaan. Er wordt aangenomen dat de centrale glucosesensor in de hersenen is gelocaliseerd. Neuroglycopenie bij een relatief verhoogde glucosespiegel in het bloed zou dus een verklaring kunnen zijn voor afgifte van contraregulerende hormonen op een verhoogd glucoseniveau<sup>310</sup>.

Het glucosetransport in de hersenen kan zich in enkele dagen aanpassen aan de mate van glycemie. Chronische verhoging van de glucoseconcentratie leidt tot een afname<sup>390,391</sup> en chronische hypoglycemie leidt tot een toeneming van glucosetransport<sup>392</sup>. Dit zou de tolerantie van insulinoompatiënten voor lage glucoseconcentraties kunnen verklaren evenals het op hypoglycemie gelijkende klachtenpatroon van diabetespatiënten bij normale en licht verhoogde (bloed) glucoseconcentraties. Men vond voor deze hypothese steun in studies bij met behulp van streptozotocine diabetisch gemaakte ratten. Het aantal "glucose transporters" in membranen van bloedvaten uit ratte-hersenen vermindert namelijk onder invloed van hyperglycemie. Ook de onder normale omstandigheden plaats hebbende stimulering van de novo synthese van "glucosetransporters" in deze hersenvaten neemt af<sup>393</sup>. Hongeren (bij ratten) kan verder een stijging van het hexosetransport van bloed naar hersenen veroorzaken. Dit is een sterk argument voor de stelling dat de glucoseconcentratie van het bloed de bepalende factor is, omdat er in deze omstandigheden sprake is van een dalende insulineconcentratie bij een eveneens dalende glucoseconcentratie<sup>394</sup>. Er is al verwoord dat insulinoompatiënten (maar ook hongerende gezonde mensen) een door insuline geïnduceerde hypoglycemie opvallend goed verdragen<sup>395</sup>. Een deel van de tolerantie kan overigens verklaard worden zonder hypothesen over glucosetransport, omdat in chronisch hypoglycemische situaties de hersenen kunnen overschakelen op metabolisme van ketonen<sup>396</sup> en lactaat<sup>397</sup>.

Er zijn weinig exacte drempels bekend. In één studie bleek voor groeihormoon de gemiddelde glucosedrempel verlaagd bij type I diabetes (ongeveer 65 mg/dl tegen 95 mg/dl bij normalen)<sup>398</sup>. Ook vond men dat de glucosedrempel voor adrenaline bij

type I diabetes verlaagd was, hoewel toch nog steeds opmerkelijk hoog (ongeveer 80–90 mg/dl tegen normalen 100–110 mg/dl). Andere auteurs vonden echter dat bij diabetes-patiënten de glucosedrempels voor contraregulerende hormonen in het algemeen verhoogd zijn<sup>387</sup>. De drempels voor bijvoorbeeld de verschillende effecten van adrenaline kunnen overigens geheel verschillend zijn. Lage concentraties van adrenaline geven bijvoorbeeld al hemodynamische effecten, bij wat hogere concentraties zijn de lipolytische effecten meetbaar en pas bij zéér hoge concentraties neemt de door de glycogenolyse teweeggebrachte hyperglycemie dusdanige vormen aan dat er een stijging is van de insulinespiegel ondanks het suppresserende adrenaline effect op de insulinesecretie.

Het is bekend dat voorafgaande hyperglycemie de glucoseproductie tijdens een daarna opgewekte hypoglycemie ongunstig kan beïnvloeden<sup>199</sup>. Onduidelijk is nog of dit het gevolg is van veranderde glucosedrempels of dat het andere suppresserende invloeden van glucose zijn op de glucoseproductie van de lever en op de afgifte van de diverse hormonen. Van scherpe diabetesregulatie wordt enerzijds gezegd dat de drempels voor activatie van de contraregulatie dalen<sup>399</sup>, maar anderzijds ook dat het contraregulerend vermogen nog verder afneemt<sup>400</sup>.

Strikt genomen is er eigenlijk maar één studie bekend waarin de glucosedrempels het hoofdonderwerp van onderzoek zijn. Het betreft een studie van Schwartz et al. bij gezonde vrijwilligers<sup>401</sup>. Zij vonden bij een trapsgewijze verlaging van de glucoseconcentratie met 10 mg/dl/uur de volgende (arterieel gemeten) glucosedrempels voor hormoonafgifte: adrenaline 69 mg/dl, glucagon 68 mg/dl, groeihormoon 66 mg/dl en cortisol 58 mg/dl. De drempel voor vrije vetzuren en lactaatverhoging lag tussen 60 en 70 mg/dl, terwijl  $\beta$ -hydroxyboterzuur pas steeg tussen 40 en 50 mg/dl. De glucosedrempel voor symptomen lag op 53 mg/dl en dit was significant lager dan de glucoseconcentratie waarbij er voor het eerst verhoging gevonden werd van adrenaline, glucagon en groeihormoon. Deze relatief hoge glucoseniveaus van de belangrijkste contraregulerende hormonen suggereren een rol voor deze hormonen niet alleen bij de acute contraregulatie ("alarm") maar ook bij de normale (normoglycemische) glucosehomeostase.

Samenvattend kan gesteld worden dat het laatste woord nog niet gezegd (en geschreven) is over de glucosedrempels. Dit betreft zowel de getalsmatige vaststelling van de waarden als de verklaring voor de er aan ten grondslag liggende mechanismen. Er zijn sterke aanwijzingen dat bij type I diabetes mellitus stoornissen in de drempels aanwezig zijn en het is suggestief om te veronderstellen dat die iets te maken hebben met klinische ervaringen betreffende hypoglycemische reacties en symptomen in het niet hypoglycemische gebied.

## **4. HYPOGLYCEMIE.**

### **4.1. BESCHRIJVING.**

Patiënten met diabetes mellitus ervaren de symptomen van een hypoglycemie over het algemeen als de meest bedreigende en belastende verschijnselen van hun ziekte. Helaas zijn (zeker de lichtere) hypoglycemieën voor iedere patiënt een dagelijkse ervaring. Het



belang van wetenschappelijk onderzoek naar de mechanismen die een rol spelen bij hypoglycemiën is daarom al belangrijk. Daar komt bij dat de metabole en hormonale reacties op een hypoglycemie bij diabetes patiënten gestoord zijn. Inzicht in de aard van de verstoringen kan van nut zijn bij het vaststellen van het doel van de behandeling. Een voorbeeld is het achterwege laten van het streven naar normoglycemie bij patiënten van wie men weet dat de contraregulatie (ernstig) is gestoord.

De glucagonafgifte bij een hypoglycemie is bij langer bestaande type I diabetes mellitus vaak gestoord<sup>310,402,403,404,405,406,407,408,409</sup>. Dit is een ernstige afwijking omdat juist glucagon het belangrijkste hormoon voor correctie van een hypoglycemie bij type I diabetes patiënten is<sup>188,409</sup>. Reeds een jaar na het stellen van de diagnose kan de glucagonafgifte al zijn uitgevallen<sup>410</sup>. Het is dus een, in de loop van de ziekte, verworven defect. Er is een relatie tussen de diabetesduur en de mate van de glucagonuitval<sup>409,411</sup>. Nogal eens blijkt dat er bij nog langer bestaande type I diabetes ook een verminderde respons is van adrenaline tijdens een hypoglycemie<sup>309,407,408,409,412,413,414</sup>. Deze combinatie van afwijkingen is zeer ongunstig, want wanneer de glucagonafgifte is gestoord is de afgiftemogelijkheid van adrenaline een absolute voorwaarde voor een nog adequate contraregulatie<sup>412</sup>. Bij pancreasloze patiënten is de krachtige werking van glucagon bij de contraregulatie gemakkelijk aantoonbaar. Het adrenaline stijgt hier normaal (hoewel een enkele auteur dit ontkent<sup>410</sup>), maar het glucoseherstel is desondanks sterk vertraagd<sup>415</sup>. Sommige auteurs vinden bij type I diabetes geen volledige normalisatie van de contraregulatie, ook niet nadat de glucagonspiegels met behulp van exogene infusie van glucagon zijn "hersteld"<sup>416</sup>. Anderen vonden dit echter wel<sup>409</sup>. Glucagon en adrenaline zijn dus (algemeen geaccepteerd) de belangrijkste contraregulerende hormonen bij type I diabetes mellitus<sup>187,382,417,418,419</sup> waarbij speciaal van adrenaline nog bekend is dat het kan compenseren voor een uitval van glucagon<sup>187,382,417,419</sup>. Verder zijn er van vrijwel alle andere contraregulerende hormonen vormen van uitval beschreven (tot een zeldzaam geval met een glucoreceptordefect op centraal niveau toe<sup>420</sup>), doch in epidemiologisch opzicht valt dit in het niet vergeleken met de problematiek door uitval van glucagon en adrenaline.

## 4.2. OORZAKEN.

Oorzaken van een verminderde contraregulatierespons zijn, algemeen gesteld, een verlies van hormoon producerend weefsel<sup>394</sup>, substraatdeficiëntie<sup>421</sup> of een verminderde afferente prikkeling van de cellen die het hormoon moeten afgeven<sup>310</sup>. De meest met stoomissen in de contraregulatie geassocieerde factor is diabetische neuropathie. Bij contraregulatie zijn de (nor)adrenalinespiegels van patiënten met een autonome neuropathie meestal verlaagd ten opzichte van patiënten die geen neuropathie hebben<sup>422,423,424,425</sup>. Er zijn echter studies naar contraregulatie bij patiënten met een aantoonbaar gestoorde adrenalineafgifte zonder dat er bij hen aanwijzingen waren voor autonome neuropathie<sup>426</sup>. Bij de meeste type I diabetespatiënten blijkt echter dat de adrenaline respons na een hypoglycemie wel enigszins is verminderd<sup>416,427</sup>. Deze feiten zijn minder discrepant dan ze lijken. Het is moeilijk om neuropathie nauwkeurig en in een vroeg stadium feilloos vast te stellen. Dit speelt ook een rol in de discussie die betrekking heeft op de relatie tussen neuropathie en glucagonuitval. Een argument tegen

een koppeling van autonome neuropathie en gestoorde glucagonafgifte is dat er reeds in het eerste jaar dat de diabetes bestaat een gestoorde glucagonafgifte kan zijn, terwijl neuropathie dan eigenlijk nog niet voorkomt. Verder kan een acceptabele glucagonafgifte toch regelmatig worden waargenomen bij patiënten met autonome neuropathie. De gestoorde glucagonafgifte is dus niet per sé gekoppeld aan autonome neuropathie<sup>428,429</sup>. Hiervoor pleit ook dat diverse onderzoekers vonden dat voor glucagonafgifte in het algemeen het autonome zenuwstelsel van betrekkelijk weinig belang is<sup>430,431</sup>. De alfa-cel-respons bij hypoglycemie wordt echter door anderen wel degelijk (partieel) toegeschreven aan de afgifte van noradrenaline uit zenuwuiteinden die in contact zijn met de alfa-cel<sup>432</sup>. Er zijn ook wel degelijk studies bekend waarin glucagonuitval wordt beschreven bij patiënten met autonome neuropathie<sup>433,434</sup>. Waarschijnlijk is dan beschadiging van het parasympatische deel van het autonome zenuwstelsel toch belangrijk, aangezien bekend is dat zowel atropine als een status na vagotomie de glucagonspiegels bij een hypoglycemie in ongunstige zin beïnvloeden<sup>435</sup>. Het lijkt er overigens op dat de verminderde responsen van de contraregulerende hormonen afhankelijk zijn van het type stimulus dat wordt gegeven en dat er geen sprake is van een volledig onvermogen tot hormoonsecretie. Keto-acidose bij langer bestaande diabetes is geassocieerd met aanzienlijke hyperglucagonemie<sup>436</sup>. Inspanning kan bij diabetespatiënten leiden tot dezelfde groeihormoonrespons als bij gezonde personen, terwijl dezelfde patiënten tijdens een hypoglycemie een verminderde reactie hebben. Hetzelfde geldt voor adrenalinene<sup>398</sup>. Arginine kan ook een normale groeihormoonrespons geven, daar waar tijdens een hypoglycemie bij dezelfde patiënt de respons in verminderde mate optreedt. De invloed van goede diabetesregulatie op de beschreven afwijkingen is enigszins controversieel. Voor glucagon geldt dat langdurige verbetering van de diabetes regulatie de abnormaliteiten van de contraregulatie niet verbetert<sup>400</sup>. Sommige auteurs vinden echter ondanks onveranderde contraregulerende hormoonspiegels toch een sneller herstel van de glucosespiegel na de hypoglycemie<sup>199</sup>. Ook anderen vinden niet dat de alfa-cel respons na optimalisering van de regeling herstelt, zodat in ieder geval gesteld kan worden dat het defect waarschijnlijk niet het gevolg is van perifere insulinedeficiëntie<sup>428</sup>. Bij type II patiënten is de glucagonafgifte ongestoord<sup>410</sup> (in het algemeen is de gehele contraregulatie bij deze groep weinig afwijkend<sup>437</sup>).

Een verhoogde insulinespiegel is een factor van groot belang bij het voortduren van een hypoglycemie. Diverse factoren zijn van invloed op de insulinespiegel zoals (langwerkende) insulinepreparaten, een verminderde insulineklaring<sup>409,422</sup> en in het bijzonder, verhoogde insulineantilichaamtiters<sup>409</sup>. Patiënten met verhoogde titers hebben een duidelijk vertraagde "glucoserecovery" na een hypoglycemie, zeker als er nog bijkomende stoornissen in de contraregulatie zijn<sup>438</sup>. De invloed van een verhoogde titer van insulineantilichamen op de vrije insulinespiegel wordt echter door andere onderzoekers weer enigszins gerelativeerd<sup>66</sup>.

De tijdsduur van een hypoglycemie blijkt belangrijke verschillen met zich mee te brengen in de wijze waarop het lichaam reageert. In het geval van korte termijn (2 uur) hypoglycemie staat als belangrijkste reactie glucoseproductie voorop. Dit blijkt vooral glycogenolyse te zijn. De oorzaak daarvan is (bij normale personen) suppressie van insulineafgifte en secretie van glucagon. Bij de lange termijn (12 uur) hypoglycemie daarentegen gaat naast de initiële glucoseproductie ook in sterke mate remming van de glucoseutilisatie meespelen. De oorzaak van deze verminderde utilisatie is waarschijn-

lijk in belangrijke mate het gevolg van de dan inmiddels circulerende "non-glucose substrates" zoals alanine, vrije vetzuren en ketonen (150-200% stijging !) alsmede van hormonale factoren die op het extrahepatische (maar ook wel het hepatische) weefsel werken<sup>439</sup>. Het karakter van de glucoseproductie is ook anders: de gluconeogenese gaat steeds meer overheersen<sup>440</sup>, doordat in die situatie zowel glucagon<sup>441</sup> als adrenaline<sup>442</sup> kennelijk sterkere gluconeogenetische dan glycogenolytische effecten hebben. Een andere mogelijkheid is het eenvoudig uitgeput raken van de glycogeenvoorraad. Cortisol is van weinig belang bij de acute contraregulatie, maar heeft wel effecten op de lange termijn zoals aanhoudende stimulatie van glucoseproductie<sup>443</sup>.

Met behulp van diagnostische tests kunnen de ernst en soms de aard en de risico's van de stoornissen in de contraregulatie worden vastgesteld. Door middel van een insulineinfusietest (40 mE/kg/uur gedurende 100 min) kan worden vastgesteld of een patiënt een gestoorde contraregulatie heeft. Indien dit het geval blijkt te zijn, is het risico van de patiënt op ernstige hypoglycemieën bij intensieve insulinetherapie met een factor 25 verhoogd<sup>426</sup>. Bij een andere insulineinfusie test (30 mE/m<sup>2</sup>/min)<sup>444</sup> is ook het risico op ernstige hypoglycemieën tijdens de behandeling te voorspellen. Uit onderzoek waarin een dergelijk verband niet werd gevonden blijkt dat waarschijnlijk ook veel factoren uit het dagelijks leven een moeilijk aantoonbare, maar wel bestaande, risicofactor vormen voor het ontwikkelen van ernstige hypoglycemieën<sup>413</sup>. Piekwaarden van de belangrijkste contraregulerende hormonen tijdens een hypoglycemie waren in deze studie in een groep diabetespatiënten met en een groep zonder ernstige hypoglycemieën niet verschillend. Naast een gestoorde adrenalineafgifte is ook een gestoorde "pancreatic polypeptide" respons na een hypoglycemie een teken van gestoorde contraregulatie. Pancreatic polypeptide is tevens een merker voor autonome (parasympatische) neuropathie<sup>445</sup>. Secretinestimulatie met gelijktijdige bepaling van pancreatic polypeptide wordt aanbevolen als een niet belastende screeningstest voor personen met een verhoogd risico voor het krijgen van een hypoglycemie<sup>446</sup>.

## 5. DIABETOGENE HORMONEN: ALGEMENE WERKING EN INTERACTIES.

Het glucosespiegel verhogende effect van de met name belangrijke hormonen glucagon, adrenaline, (noradrenaline), cortisol en groeihormoon is alom bekend. Dit effect wordt veroorzaakt doordat ze in meerdere of mindere mate een toeneming van de glucoseproductie door de lever of een afneming van de perifere glucoseutilisatie geven. Adrenaline remt verder de insulinesecretie. Een (bijna) historisch en klassiek voorbeeld van de diabetogene werking van deze contraregulerende hormonen is het feit dat hypophyse- en bijnierloze honden niet hyperglycemisch worden na een pancreatectomie<sup>447</sup>. Ook bij de mens voorkomt de afwezigheid van contraregulerende hormonen het optreden van hyperglycemie bij insulinedeficiëntie<sup>448,449</sup>. De diabetogene werking van glucagon en groeihormoon wordt verder onderstreept door de waarneming dat onderdrukking van deze hormonen tijdens somatostatine infusie<sup>450</sup> of na hypophysectomie<sup>451</sup> leidt tot een sterk vertraagde ontwikkeling van diabetische ketoacidose. Dit berust waarschijnlijk op een minder snel toenemen van lipolyse met de daaraan gekoppelde vrije vetzuurvrijmaking<sup>452</sup>. Er is een zeker onderscheid te maken in de effecten van de



diabetogene hormonen. De voornaamste effecten van de beide catecholaminen en glucagon zijn op de lever gericht: glycogenolyse, later meer gluconeogenese. De glucoseproductie (onder invloed van adrenaline) van de lever houdt bij patiënten met diabetes echter langer aan dan bij gezonden<sup>331,332,453</sup> en is naarmate de tijd verstrijkt, meer en meer van het gluconeogenetische type<sup>454</sup>. Groeihormoon en cortisol zijn in hun werking meer op de (perifere) weefsels gericht. Ze remmen daar vooral de glucoseutilisatie. Verhoogde spiegels van cortisol of adrenaline kunnen een daling van de glucoseklaring veroorzaken van wel 25-40%<sup>331,455</sup>. Alle bekende contraregulerende hormonen remmen de perifere glucoseutilisatie echter wel enigszins, met uitzondering van glucagon<sup>456,457,458</sup>. Verder kan men de hormonen grof onderscheiden in een klasse met snelle werking: catecholaminen en glucagon en een klasse met vertraagde werking: groeihormoon en cortisol.

Insuline heeft een modulerend effect op de werkingen van de contraregulatie hormonen. Zo zijn groeihormoon en glucagon in aanwezigheid van insuline duidelijk minder diabetogeen dan bij hypoinsulinemie<sup>408</sup>. Insuline heeft verder een rechtstreeks effect op de hypothalamus. Dit effect blijkt de spiegels van contraregulerende hormonen weer te kunnen beïnvloeden<sup>459,460</sup>. De ventromediale hypothalamus is de bij de mens veronderstelde plaats van de "centrale glucosensor"<sup>461</sup>. Van deze locatie is tevens bekend dat er veel insulinerceptoren voorkomen<sup>462</sup>.

Een lage glucosespiegel heeft een overbekend effect op de hormoonafgifte, maar minder bekend is dat ook de glucosespiegel voorafgaande aan een hormonale reactie gevolgen kan hebben voor de afgifte van contraregulerende hormonen die na deze episode worden gemeten, zelfs indien de verandering van de glucosespiegel in de fysiologische range was (het is zowel bij diabetes patiënten<sup>387,463</sup> als bij gezonden waarneembaar<sup>464</sup>). Van zowel ketonlichamen als van vrije vetzuren is bekend dat ze naast hun remmende werking op de glucoseutilisatie ook nog een remmende werking hebben op de afgifte van diverse contraregulerende hormonen: glucagon<sup>465,466</sup>, groeihormoon<sup>467,468</sup> en catecholaminen<sup>469,470</sup>. Anderzijds kunnen verhoogde vrije vetzuurspiegels (evenals glycerol) dienen als substraat voor glucoseproductie en zo met name de gluconeogenetische effecten van adrenaline versterken<sup>471</sup>. Contraregulerende hormonen hebben ook een effect op elkaars werking. Dit effect is vooral synergistisch. Gecombineerde infusie van adrenaline, glucagon en cortisol geeft aanmerkelijk meer hyperglycemie ( $>200$  mg/dl) dan de afzonderlijke infusie van deze hormonen ( $<120$  mg/dl)<sup>332</sup>. Deze waarneming relateert enigszins de waarde van studies (bijvoorbeeld naar het "dawn"-fenomeen) waarbij men het effect van weglaten of juist infunderen van één hormoon bestudeert. Sommige onderzoekers vinden bij type I diabetespatiënten, in tegenstelling tot normale proefpersonen, zelfs in het geheel geen verhoging van de glucoseconcentratie na infusie van glucagon, cortisol of groeihormoon in doseringen die leiden tot spiegels zoals die bij stress worden gevonden (wel na dit type adrenaline infusie). Potentiëring van de effecten is wel waarneembaar bij gezamenlijke infusie<sup>472</sup>. Deze bevinding is uiteraard in tegenspraak met de eerder beschreven verhoogde gevoeligheid van diabetes patiënten voor de contraregulerende hormonen.

## 5.1. DIABETOGENE HORMONEN: GLUCAGON.

Bij de bespreking van de contraregulatie is het noodzakelijk, zeker gezien de buitengewoon belangrijke rol van glucagon in dit proces, nog wat dieper in te gaan op de regulatie van dit hormoon. Een behoorlijk aantal stoffen blijkt namelijk invloed te hebben op de alfa-cel.

Allereerst is er de directe suppresserende invloed van glucose op de glucagon afgifte<sup>473</sup>. Zo is vastgesteld dat de hoogte van de glucosespiegel kort voor een experiment invloed kan hebben op de glucagonafgifte tijdens de aansluitend geïnduceerde hypoglycemie. Bij normale personen geeft 80 min hyperglycemie (15 mmol/l) voorafgaande aan de hypoglycemie, reeds een reductie in de glucagonafgifte ten opzichte van 80 min eraan voorafgaande euglycemie (5 mmol/l)<sup>474</sup>. Ook insuline heeft een glucagon suppresserende werking<sup>475</sup>. Dit is een effect dat duidelijk los staat van invloeden van de glucoseconcentratie op de alfa-cel<sup>476,477</sup>. Aangezien bij gezonde personen glucosestijging een insulineverhoging uitlokt, is er van deze beide glucagon suppresserende stoffen een synergistisch effect te verwachten. Het blijkt inderdaad dat deze veronderstelling juist is. Glucosestijging alleen is niet voldoende voor een volledige suppressie van glucagon. Volledige suppressie wordt pas bereikt in aanwezigheid van zowel insuline als glucose. Glucagon speelt niet alleen een rol bij de hypoglycemische contraregulatie maar ook bij de meer subtiele regeling rond het normoglycemische gebied. Bij een orale glucosetolerantietest resulteert glucagon deficiëntie in 30% lagere glucoseconcentraties dan normaal in de loop van de test (na 225 min)<sup>478</sup>. Van de naburige beta-cel gaat op paracrine wijze een suppresserende invloed uit op de alfa-cel<sup>479</sup>. Dit is onafhankelijk van de suppresserende effecten van de insulinespiegel in het bloed. Somatostatine onderdrukt de alfa-cel waarschijnlijk ook op een paracrine manier<sup>480</sup>. De glucagonafgifte staat ook onder negatieve "feed-back" van de spiegel van vrije vetzuren<sup>481</sup>. De insulinedeficiëntie in het pancreas bij type I patiënten kan tot glucagonverhoging leiden. De daarbij behorende hyperglycemie leidt dan kennelijk niet tot voldoende glucagonsuppressie. Hoewel insuline en glucose beide nodig zijn voor een goed suppresserend effect, is bekend dat de suppressie van glucagon door glucose per sé bij diabetes (type I) ook verminderd is<sup>481,482,483</sup>. Dit wordt overigens ook mede veroorzaakt door de verlaagde insulinespiegels<sup>484,485</sup>. Het is denkbaar dat chronische hyperglycemie ("glucose toxicity") een verminderde reactiviteit geeft van de alfa-cel op een hyperglycemische prikkel<sup>480</sup>. Deze verminderde reactiviteit wordt ook wel aangeduid met de term "glucoreceptordefect"<sup>486</sup>. De stoornissen behoren waarschijnlijk niet bij de "genetische aangeleg" voor de ziekte. Hiervoor pleit ook dat de reactie gering is bij, met behulp van alloxaan, diabetisch gemaakte honden<sup>487</sup> en met behulp van streptozotocine, diabetisch gemaakte ratten<sup>411</sup>. Intrigerend is dat de glucagonreactie op andere stimulators van de alfa-cel meestal normaal is<sup>310</sup> (soms zelfs versterkt<sup>488,489</sup>). Normalisering op langere termijn van de glucosespiegels geeft wel een verbetering van de abnormale reacties. Zo normaliseert de aanvankelijk versterkte respons van glucagon op arginine bij verbeterde regulatie<sup>490</sup>. De belangrijkste werking van glucagon, zeker bij een hypoglycemie, is verhoging van de glucoseproductie<sup>491,492</sup>. Er zijn echter ook wel (minder bekende en minder belangrijke) negatieve effecten op de glucoseutilisatie<sup>493</sup>. De door glucagon veroorzaakte glucoseproductie berust op de korte termijn vooral op glycogenolyse en op de lange termijn ook op gluconeogenese<sup>441</sup>. Verder is er nog een ketogene werking

die (uiteraard) vooral bij insulinedeficiëntie manifest wordt<sup>494</sup>. Eigenlijk geldt, net als voor de andere diabetogene hormonen, voor glucagon dat de hyperglycemische effecten bij diabetes patiënten sterker zijn dan bij gezonde personen, vooral door het ontbreken van het normale fysiologische evenwicht met insuline<sup>495</sup>. Chronische hyperglucagonemie doet in tegenstelling tot de verwachting het vermogen om een koolhydraatbelasting te verwerken, niet afnemen<sup>472</sup>. Inspanning geeft in het algemeen een verhoging van glucagon<sup>496</sup> door  $\beta$ -adrenerge stimulatie<sup>497</sup>. Bij diabetes is er een nog verdere pathologische toeneming van het glucagon na inspanning. Training heeft daarop overigens weer een reducerende (normaliserende) werking<sup>498</sup>.

## 5.2. DIABETOGENE HORMONEN: CATECHOLAMINEN.

Zoals reeds eerder is opgemerkt, zijn er belangrijke, vooral snelle, effecten van de catecholaminen (met name adrenaline) op de glucoseproductie en de glucoseutilisatie. Dit zijn als het ware processen, die een regelrecht effect hebben op de instandhouding van normoglycemie. Er zijn echter ook belangrijke effecten op de lipolyse. In fysiologische omstandigheden is dit een meer chronisch (regulerend) effect op de energiehuishouding. Zo doet vasten bijvoorbeeld de noradrenalineconcentratie toenemen en geeft het een versterkte respons van vrije vetzuren op een adrenalineverhoging<sup>499</sup>. Overigens fungeert noradrenaline in veel opzichten vooral als neurotransmitter. De concentraties moeten in het algemeen ver boven het fysiologische niveau komen om aantoonbare hormonale effecten te geven. Noradrenaline is als veroorzaker van hyperglycemie 10 keer minder effectief dan adrenaline<sup>500</sup>. Daar staat tegenover dat noradrenaline wel degelijk een ketogene werking heeft in normale concentraties<sup>501</sup>. Bij een (niet fysiologische) hypoglycemie wordt het dan wel hormonaal actieve noradrenaline voor het overgrote deel gesecerneerd door het bijniermerg<sup>502</sup>. Bij een hypoglycemie is er ook intrahepatische afgifte van noradrenaline uit sympatische zenuwuiteinden. Dit leidt tot glycogenolyse<sup>503</sup>. In rust wordt de concentratie meer bepaald door "lekkage" uit perifere synapsen en correleert de noradrenalineconcentratie goed met de mate van spieractiviteit<sup>504</sup>. Bij een hypoglycemie spelen overigens zowel bijnieractiviteit als spieractiviteit een rol<sup>505</sup>.

Over de specifieke werking van adrenaline is buitengewoon veel geschreven. In het kort komen de effecten op het volgende neer. Het initiële effect (na een hypoglycemie) van adrenaline is vooral glycogenolyse<sup>506,507</sup>, maar na enige tijd gaat de gluconeogenese (uit bijvoorbeeld alanine) overheersen, tezamen met een remming van de perifere glucoseutilisatie<sup>187,472,508,509</sup>. Suppressie van de glucoseutilisatie door adrenaline geschiedt sneller dan de stimulatie van de glucoseproductie<sup>456</sup>. In tegenstelling tot de door insuline geïnduceerde hypoglycemie is bij inspanning noradrenaline het belangrijkste catecholamine bij de preventie van hypoglycemie (bij normale personen). Adrenaline speelt dan geen overheersende rol<sup>510</sup>. Het mechanisme van glucoseverhoging door adrenaline kan ook indirect verlopen via suppressie van insuline en stimulatie van glucagon of via een effect op beide<sup>511</sup>. Een ander prominent effect van adrenaline is inductie van lipolyse met ketogenese<sup>512</sup>. De door adrenaline veroorzaakte verhoging van vrije vetzuren geeft dan ook indirect, (naast de adrenaline effecten zelf), een vermindering van de glucoseutilisatie<sup>513</sup>. Om dit adrenalineffect (samen met vrije vetzuren) op

de glucoseutilisatie tegen te gaan zijn 5 tot 10-voudige insulinedoseringen nodig. Het mechanisme van de (door adrenaline) gestoorde glucoseutilisatie zou kunnen berusten op een toegenomen glycogenolyse<sup>514</sup>. Daardoor accumuleert er glucose-6-phosfaat en fructose-6-phosfaat, zodat uiteindelijk hexokinase wordt geremd. Het adrenalineffect op de glucoseutilisatie heeft dus het karakter van een post-receptordefect<sup>515</sup>. Verder geeft adrenaline een remming van de glucoseopname in het splanchnicus gebied<sup>516</sup>. Bij een (vrijwel) afwezige glycogeenvoorraad in de lever, zoals tijdens hongeren, is adrenaline waarschijnlijk bij de contra-regulatie in toenemende mate van belang. Het blijkt namelijk dat, indien de lever in die situatie niet meer met glycogenolyse reageert op een fysiologische glucagonspiegel, er nog wel degelijk glucoseproductie (gluconeogenese vooral) teweeg gebracht kan worden met een fysiologische adrenalinespiegel<sup>517</sup>. De insulinespiegel kan effecten van de catecholaminen moduleren. Hoge insulinespiegels onderdrukken het effect van adrenaline op de glucoseproductie van de lever volledig, de remming op glucoseutilisatie vermindert met 2/3 (bij een lagere insulinedosering meer in de fysiologische sfeer is dit 1/3). Dit bevestigt het bekende concept dat de glucoseproductie gevoeliger is voor de effecten van insuline dan de glucoseutilisatie<sup>276</sup>. Adrenaline zelf stimuleert ook de afgifte van enkele hormonen. De bekendste effecten zijn die op de secretie van glucagon<sup>518</sup> en ACTH<sup>519</sup>. Catecholaminen kunnen ook een groeihormoon stijging uitlokken<sup>520</sup>.

### 5.3. DIABETOGENE HORMONEN: GROEIHORMOON.

Bij het beschrijven van werkingen van groeihormoon zou men dit hormoon althans voor een diabetespatiënt bijna karakteriseren als een hormoon dat meer kwaad dan goed doet. Bijna alle effecten hebben namelijk, voor zover onze kennis reikt, een "verstoring" effect op de glucosehomeostase. De groeihormoonsecretie wordt gereguleerd door twee hypothalamische peptiden te weten het "growth hormone releasing peptide" (GRF) en somatostatine. Het eerste stimuleert, het tweede remt de groeihormoonafgifte<sup>521</sup>. Er wordt verondersteld dat glucose de somatostatineafgifte zowel in de hypothalamus<sup>522</sup> als in het pancreas stimuleert<sup>523</sup>. Een extra argument voor de stelling dat de hypothalamus de groeihormoonafgifte reguleert is het feit dat arginine de groeihormoonsecretie kan stimuleren. Van arginine is namelijk bekend dat de werking zeker op hypothalamisch niveau aangrijpt. Dit maakt ook de kans dat de glucosespiegel hier zijn regulerende werking uitoefent groter<sup>524</sup>. Bekende stimuli voor de afgifte van groeihormoon zijn slaap, inspanning, stress en de na 4-5 uur optredende post-prandiale daling van de glucosespiegel (of de groeihormoonstijging hier ook een substantiële glucoseverhoging teweegbrengt is overigens zeer de vraag). Verder zijn er nog hypoglycemie en diverse farmacologische stimuli. Ook andere hormonen beïnvloeden de groeihormoonafgifte. Catecholaminen en glucagon kunnen een groeihormoonverhoging geven<sup>520</sup>. Progestagenen geven suppressie<sup>525</sup>. Oestrogenen (endogeen of exogeen) doen de groeihormoonafgifte op hypoglycemie toenemen<sup>526</sup> en amenorrhoe (ondanks "normale" oestradiolspiegels) doet de groeihormoonrespons afnemen<sup>527</sup>.

Groeihormoon is in zekere zin een langzaam werkend hormoon. Hoewel kort na een concentratiestijging een zogenaamd voorbijgaand "insulin-like" effect kan worden waargenomen begint de substantiële werking op de glucosestofwisseling pas zichtbaar

te worden na ongeveer 2-4 uur (evenals bij cortisol)<sup>528,529</sup>. Het voorbijgaande "insulin-like" effect van groeihormoon verklaart mogelijk wel partieel de glucosenadir midden in de nacht, zoals die bij type I diabetes patiënten frequent wordt geconstateerd<sup>530</sup>. Overigens is het bestaan van het voorbijgaande "insulin-like" effect wel omstreden. Ook bij een hypoglycemie is groeihormoon langzaam: het herstel van de glucoseconcentratie begint eerder dan de stijging van groeihormoon (en cortisol)<sup>531</sup>. De werking van groeihormoon is te splitsen in drie soorten. Er is een (relatief gering) effect van groeihormoon op de glucoseproductie<sup>532</sup>. Het opvallendste effect van groeihormoon is remming van de perifere glucoseutilisatie, vooral via een post-receptordefect (en in mindere mate via een receptordefect)<sup>457</sup>. Verhoogde groeihormoonspiegels, zoals die worden gezien bij stress, geven lipolyse met verhoging van de vrije vetzuurspiegels<sup>533</sup>. Het is aannemelijk dat de verhoging van de vrije vetzuren een ongunstige invloed heeft op de perifere glucoseutilisatie, zowel in vitro (Randle theorie) als in vivo<sup>513</sup>.

Naast de normale fysiologische variatie en werkingen van groeihormoon zijn er met name bij type I diabetes mellitus ook tal van abnormale patronen bekend. Allereerst is er enige twijfel of de aard van het gemeten groeihormoon bij de reacties wel hetzelfde is als bij gezonde personen in een zelfde situatie. Bij type I diabetes is namelijk het gehalte aan "little (monomeric)" groeihormoon groter<sup>534</sup>. Abnormale groeihormoonverhoging komt voor als uiting van slechte metabole regulatie<sup>535,536,537,538</sup>, na inspanning<sup>324</sup>, bij ketoacidose<sup>539</sup> en bij post-hypoglycemische hyperglycemie<sup>427</sup>. Ook is er melding gemaakt van verhoogde groeihormoonspiegels tijdens matige inspanning bij patiënten met retinopathie<sup>540</sup>. Bij zeer goed gereguleerde diabetes is het groeihormoon niet meer chronisch verhoogd, maar nog steeds wel te hoog voor de graad van hyperglycemie<sup>541</sup>. Ook in meer experimentele omstandigheden blijkt dat glucose onvoldoende suppressie geeft van groeihormoon<sup>542,543</sup>. Ondanks de verhogingen van groeihormoon geeft exogeen toegediend somatostatine wel een adequate suppressie<sup>544</sup>. De vraag blijft of dit niet het gevolg is van de (nogal eens) farmacologische dosering van somatostatine. Nogal eens zijn er abnormaal sterke reacties van groeihormoon beschreven tijdens arginine<sup>545</sup> en dopaminestimulatie<sup>546</sup>. Hoewel bij niet obese type II patiënten de groeihormoonspiegels in basale omstandigheden meestal gelijk zijn aan die van gezonden, zijn te sterke reacties toch ook bij die categorie patiënten gevonden<sup>324,547</sup>. Bij type I patiënten kan de (versterkte) respons op arginine overigens worden gesupprimeerd door verdere verhoging van de glucoseconcentratie (zowel in hypo- als hyperinsulinemische toestand). Er is naar voren gebracht dat insuline bij diabetes (overigens voornamelijk type II) een stimulerend effect heeft op de groeihormoonafgifte. De reactie op GRF verloopt ook nogal eens abnormaal. Er zijn (niet zeer uitvoerig bevestigde) aanwijzingen dat de groeihormoon afgifte op GRF bij patiënten met type I diabetes mellitus en een ernstige retinopathie verhoogd is, terwijl dezelfde patiënten in incidentele gevallen ook een paradoxe reactie van groeihormoon op TRH hadden. In het algemeen zouden type I diabetespatiënten een vergelijkbare respons op GRF hebben ten opzichte van gezonde personen (in tegenstelling tot de verlaagde respons van obese type II patiënten)<sup>548</sup>. De zogenaamde normale reactie van type I diabeten op GRF is strikt genomen overmatig, omdat bij normalen er zelfs bij maar de geringste mate van hyperglycemie (150 mg/dl) al een aanzienlijke suppressie optreedt van de door GRF gestimuleerde groeihormoon afgifte<sup>549</sup>. Het lijkt er dus op dat glucose de hypothalamische somatostatineafgifte toch onvoldoende stimuleert. Een afwezige groeihormoonrespons gedurende



een hypoglycemie bij type I patiënten is ook beschreven maar komt toch betrekkelijk weinig voor<sup>310,413</sup>. Als verklaring voor alle abnormaliteiten wordt vooralsnog bij gebrek aan een exactere aanduiding een defecte "blood-brain barrier" bij diabetes voor de oorzakelijke factor gehouden.

#### 5.4. DIABETOGENE HORMONEN: CORTISOL.

Cortisol kenmerkt zich bij diabetes mellitus vooral door het feit dat het een betrekkelijk indolent hormoon is. Er zijn eigenlijk geen abnormaliteiten van groot belang over te melden. Cortisol heeft als belangrijkste werking het met betrekkelijk veel vertraging induceren van een remming van de perifere glucoseutilisatie via de inductie van zowel een receptordefect<sup>458</sup> als een post-receptordefect<sup>550</sup>. Verder is er een, naar verhouding wat minder belangrijk, stimulerend effect op de glucoseproductie van de lever<sup>472,508</sup>. Er zijn aanwijzingen dat bij type I diabetes patiënten cortisol een sterker effect heeft op de glucosespiegel dan bij normalen. Bij de laatste categorie is het effect namelijk in het geheel niet aanwezig<sup>331</sup>. Het onvermogen tot afgifte van een adequate hoeveelheid insuline speelt hierbij een rol. Bij voldoende insulinisatie is het effect op de glucosetolerantie dus zeer gering<sup>472</sup>. De afgifte van cortisol komt bij een hypoglycemie laat op gang, vaak nog later dan het moment waarop de eerste tekenen van het herstel van de glucoseconcentratie zich reeds aankondigen. Bij type I diabetes is de afgifte bij een hypoglycemie vrijwel altijd ongestoord<sup>413,426,451</sup> (een enkele uitzondering is beschreven<sup>438</sup>). Cortisol heeft een indirect effect op de adrenaline secretie omdat het bijnierezym phenyl-N-methyltransferase erdoor wordt gestimuleerd. Dit enzym zet noradrenaline om in adrenaline. Als mogelijk glucose stabiliserend hormoon dat een dreigende hypoglycemie voorkomt na een glucosetolerantie test, speelt cortisol ook geen rol van betekenis, dit in tegenstelling tot bijvoorbeeld glucagon.

## Hoofdstuk 4.

### VERDELINGSVOLUME VAN GLUCOSE.

Dit hoofdstuk is ingedeeld in:

1. Inleiding.
2. Meetstoffen.
3. Meetmethoden.
4. Verdwijning van glucose of "tracer".
5. Veronderstellingen.
6. Vergelijking.
7. Algemeen principe.
8. Technische problemen.
9. Mathematiek.
10. Samenvatting.

#### 1. INLEIDING.

De bepaling van het verdelingsvolume van glucose is geen doel op zich. Men moet de omvang ervan kennen om berekeningen van de glucosebehoefte te kunnen maken in een dynamische situatie, dat wil zeggen, bij een veranderende glucoseconcentratie in het bloed.

Een stof die in het bloed is gespoten, zal zich binnen een bepaalde tijd over haar verdelingsvolume verdelen. De snelheid van dit proces hangt af van een aantal factoren. Invloed op de verdelingssnelheid van een stof hebben bijvoorbeeld molecuulgrootte, oplosbaarheid in vet of water, eiwitbinding, en viscositeit.

De "ruimte" waarin verdeling van de stof plaats heeft, wordt bepaald door anatomische, fysisch-chemische en functionele factoren. Albumine bijvoorbeeld, verdeelt zich vrijwel uitsluitend binnen de bloedbaan (een bij benadering anatomisch volume) terwijl inuline zich verdeelt over bloed en extracellulair water (een meer functioneel dan anatomisch volume). Gegeneraliseerde vasoconstrictie zou bijvoorbeeld kunnen leiden tot een kleiner verdelingsvolume van albumine. Het verdelingsvolume kan men onderverdelen in meerdere compartimenten met verschillende eigenschappen met betrekking tot de snelheid van uitwisseling van de betreffende stof. Het is mogelijk dat niet op elke plaats in een verdelingsvolume dezelfde concentratie heerst en het is evenzeer mogelijk dat niet alle compartimenten de stof met dezelfde snelheid uitwisselen. Vrijwel elk verdelingsvolume kenmerkt zich door functionele aspecten. Derhalve is het de gewoonte te spreken van een "apparent volume". Het verdelingsvolume van een stof wordt gedefinieerd als een berekend (functioneel) volume waarin de *vrije uitwisselbare* stof zich kan verdelen. Als er meer compartimenten zijn waaruit het volume bestaat, kunnen in deze compartimenten verschillende concentraties van de betreffende stof heersen. De waargenomen grootte van het verdelingsvolume is afhankelijk van de plaats waar men de stofconcentratie bepaalt.

Het verdelingsvolume is de hoeveelheid vloeistof die benodigd is om de totale hoeveelheid aanwezige stof op te lossen tot een concentratie, zoals gemeten op die gekozen plaats. Is er gemeten in bloed, dan staat het verdelingsvolume in literequivalenten bloed. De hoeveelheid van de vrij uitwisselbare stof die zich in het verdelingsvolume bevindt, is de "pool". De "pool" is ook te definiëren als de concentratie van de stof

maal het verdelingsvolume ervan. In dezelfde omstandigheid zal men bij het bepalen van het verdelingsvolume verschillende waarden vinden bij meting van de concentratie in bloed en bij meting van de concentratie in bijvoorbeeld extracellulair water. (Indien de concentraties althans op die plaatsen verschillend zijn). In beide gevallen is de "pool" van de stof echter gelijk.

In het algemeen gesproken, is het niet mogelijk om exact te meten, wanneer na inspuiting de verdeling van een stof in haar volume volledig is. Indien er in het geheel geen metabolisme of excretie is, is het mogelijk om door meting van concentraties nauwkeurig vast te stellen of de verdeling inderdaad volledig is. Een niet meer wijzigende concentratie duidt dan op het bereiken van evenwicht. Het bereikte evenwicht duidt op een volledige verdeling. Het verdelingsvolume is dan te berekenen door deling van de ingespoten hoeveelheid door de gevonden (eind)concentratie. Gecomplieerder ligt de zaak, indien er wél sprake is van metabolisme of excretie van de stof. In zo'n geval zal er nimmer een evenwicht ontstaan. Een doorgaande verandering in concentratie van de stof wijst daar op. Dit is geen beletsel voor het benaderen van de grootte van een verdelingsvolume. Glucose verspreidt zich na intraveneuze toediening zeer snel in de bloedbaan maar ook daarbuiten, bijvoorbeeld in het extracellulaire compartiment. Het is zelfs denkbaar dat de glucose in cellen wordt opgenomen, zonder dat er meteen sprake is van omzetting of verwerking (bijvoorbeeld fosforylering). In zo'n situatie, althans wanneer de glucose de cel ook weer kan verlaten, is het intracellulaire compartiment deel van het glucoseverdelingsvolume en is de vrije intracellulaire glucose deel van de glucose "pool".

## 2. MEETSTOFFEN.

Om het verdelingsvolume van glucose te kunnen meten kan men glucose zelf, maar ook functioneel op glucose gelijkende stoffen gebruiken (bijvoorbeeld met een isotoop van koolstof- of waterstof gemerkte glucose).

1. **GLUCOSE.** Het is vanzelfsprekend dat glucose zelf als meetstof het meest ideaal is, maar na inspuiting van een bolus is door meting van de glucoseconcentratie niet uit te maken welk deel lichaamseigen glucose is en welk deel afkomstig is van de bolus. Verderop zal een methode besproken worden om dit probleem op te lossen.

2. **GLUCOSEANALOGEN.** Men kan een stof kiezen die de eigenschappen van glucose zoveel mogelijk benadert. Het is nooit geheel zeker of de vervangende stof zich wel in alle opzichten gedraagt als glucose, maar het laatste wordt voor met een isotoop gemerkte glucose algemeen verondersteld. Men kan het analoog in bloed duidelijk scheiden van de lichaamseigen glucose. Het merken met zowel radioactieve isotopen (bijvoorbeeld  $^3\text{H}$ -Glucose) als met stabiele isotopen (bijvoorbeeld  $^2\text{H}$ -Glucose) is mogelijk. Overigens kan de localisatie van het isotoop wel verschillen in uitkomst geven bij verder gelijke meetopstellingen. Als de hoeveelheid van het glucoseanaloog te verwaarlozen is ten opzichte van die van glucose spreekt men van een "tracer".



### 3. MEETMETHODEN (zie fig. 4.1.).

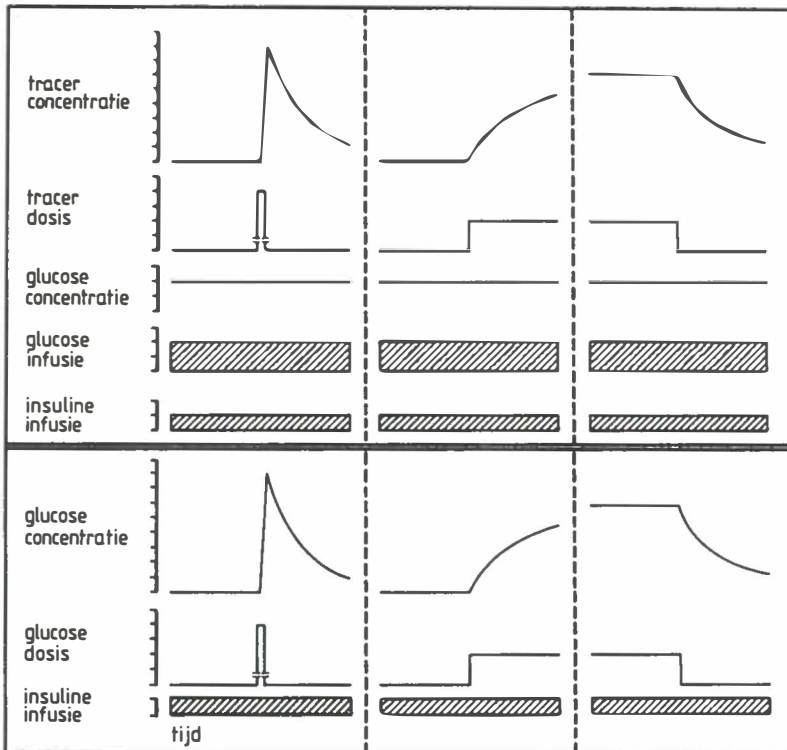
Zowel bij glucose als bij de glucoseanalogen zijn er twee verschillende methoden om het verdelingsvolume van glucose vast te stellen:

**1. BOLUSMETHODE.** De glucose of het glucoseanaloog wordt op  $t=0$  in een verwaarloosbare tijd in de bloedbaan gespoten. Daarna worden de concentraties gedurende een bepaalde tijd gemeten.

**2. INFUSIEMETHODE.** Hier zijn twee mogelijkheden:

a. Na instelling van een evenwicht (met andere woorden: een vaste verhouding tussen de glucoseconcentraties van de veronderstelde compartimenten) wordt een "square wave" infusie van tracer of glucose gestart op  $t=0$ . Registratie van glucoseconcentraties vindt plaats (bij het gebruik van een analoog zowel glucose- en tracerconcentraties).

b. Een continue infusie van glucose of tracer (eventueel voorafgegaan door een "priming dose") wordt gestart en nadat evenwicht is bereikt wordt de infusie op  $t=0$  abrupt gestaakt. Ook dan vindt er registratie van glucoseconcentraties (en bij het gebruik van een analoog, glucose- en tracerconcentraties) plaats.



**Figuur 4.1.:** Methoden voor het bepalen van het verdelingsvolume van glucose. Boven: De tracermethoden. Onder: De glucosemethoden. Linker kolom: De bolusmethode. Middelste kolom: Starten van een "square wave"-infusie. Rechter kolom: "Square wave" staken van een infusie. De glucosemethode met staken van de infusie werd in het onderzoek gebruikt.

#### 4. VERDWIJNING VAN GLUCOSE OF TRACER.

Bij een volumebepaling kan men twee uitgangssituaties kiezen:

1. **TRACER OF GLUCOSE VERDWIJNT NIET.** Indien men van deze veronderstelling uitgaat dan is de situatie zéér eenvoudig. Na het toedienen van een bolus wacht men tot equilibratie is opgetreden. Dit is merkbaar aan een niet meer wijzigende glucose- dan wel tracerconcentratie. Daarna is het verdelingsvolume te berekenen door de toegediende hoeveelheid te delen door de gevonden eindconcentratie. In geval van glucosetoediening zou deze concentratie eerst verminderd moeten worden met de reeds bestaande glucoseconcentratie. Deze situatie is in vivo niet realistisch aangezien er altijd metabolisme van glucose of tracer optreedt.

2. **TRACER VERDWIJNT WEL.** Dit is de situatie zoals die in vivo is. De glucose- of tracerconcentratie kan nu niet eenvoudig alleen als maat voor verdunning worden gezien. Dit probleem is mathematisch te benaderen. Een onoplosbaar probleem ontstaat echter, indien de verdwijning van de tracer niet definitief is. In die situatie kan de na enige tijd reeds verdwenen tracer opnieuw in de circulatie verschijnen. Het fenomeen dat de lever reeds gemetaboliseerde tracerglucose als zodanig of als gemerkt lactaat aan de circulatie afstaat staat bekend onder de naam "futile cycling" of "tracer recycling". Het leidt tot fouten in de berekening van het verdelingsvolume.

#### 5. VERONDERSTELLINGEN.

1. Het verdelingsvolume van de tracer (indien gebruikt) moet gelijk zijn aan dat van glucose.
2. De tracerconcentratie is verwaarloosbaar laag ten opzichte van de glucoseconcentratie zodat competitie of interferentie met het glucosemetabolisme te verwaarlozen is. Het metabolisme van de tracer heeft een definitief karakter. Er mag géén "recycling" optreden.
3. De meting van glucose- en tracerconcentratie moet plaatsvinden, daar waar verondersteld wordt dat de *veranderingen* die gemeten worden, representatief zijn voor het verdelingsvolume. De gemeten concentraties behoeven niet representatief te zijn voor dat wat zich in het gehele volume afspeelt maar de *veranderingen* wél.
4. Er moet evenwicht zijn op  $t=0$ , het moment dat men de verandering aanbrengt. Dit houdt in dat er een vaste verhouding moet zijn tussen de concentraties van glucose en tracer. Dit houdt niet in dat dit evenwicht ervoor of erna ook per sé aanwezig moet zijn. Bij benadering naar  $t=0$  moet het echter wél het geval zijn. Een niet-evenwichtssituatie ontstaat wél vlak na het starten van een "square wave" infusie of bij het spuiten van een bolus van hetzij tracer hetzij glucose. Mits de registratietijd voldoende lang is, is toch rekenkundig te benaderen hoe de verandering zou zijn op  $t=0$ , indien er geen verstoring van het evenwicht had plaats gevonden.
5. In de praktijk is het bloed(compartiment) zowel de plaats waar men glucose of tracer inspuut als de plaats waar men de concentraties ervan meet. Direct na het inspuiten van glucose of tracer (of het starten van een "square wave" infusie) zal er daarom nog geen vaste verhouding zijn bereikt tussen de concentraties in alle meer of minder snel uitwisselende compartimenten. De concentratie in het bloedcompartment is nog onevenredig

hoog en daalt daarna snel in korte tijd. De veranderingen van de gemeten concentraties zijn dan niet representatief voor de veranderingen van de concentraties in het verdelingsvolume. Na een bepaalde tijd postuleert men dat die vaste verhouding (tussen de concentraties) wel is bereikt of dat die tenminste bij benadering is bereikt. Daarna nog langer doorgaan met registreren is theoretisch beter maar praktisch niet. De tracerconcentratie kan bijvoorbeeld te laag worden voor een betrouwbare meting of het "tracerrecycling" fenomeen kan gaan optreden.

## 6. VERGELIJKING.

Hiervoor werd beschreven dat er bij de bepaling van het glucoseverdelingsvolume geen principieel verschil is tussen de voorwaarden en problemen die zich voordoen bij gebruikmaking van glucose zelf of van een glucoseanaloog. Dit geldt zowel voor het toedienen van een bolus, het starten van een "square wave"-infusie als voor het abrupt staken van een infusie. In alle gevallen postuleert men een representatieve meetplaats voor de verandering van of de tracer- of de glucoseconcentratie. Men gebruikt de eerste metingen niet omdat de concentratieveranderingen niet representatief zijn en men benadert rekenkundig de verandering op  $t=0$ . Verderop in dit hoofdstuk zal nog aangetoond worden dat ook de berekeningsmethoden niet wezenlijk verschillen.

Er is wel een principieel verschil tussen enerzijds de bolusmethode en de "square wave"-infusiemethode en anderzijds de methode waarbij die infusie abrupt wordt gestaakt, indien het compartiment van intrede (dus meestal bloed) een gering deel van het totale verdelingsvolume omvat. In het eerste geval zijn de concentratieveranderingen aanvankelijk zeer groot (omdat alle toegevoerde stof zich nog moet verdelen) en volstrekt onbruikbaar. In het tweede geval zijn de concentratieveranderingen gering, omdat de toegevoerde stof al verdeeld was en na korte tijd al te gebruiken voor een berekening. De methode waarbij de infusie abrupt wordt gestaakt heeft daarom grote voordelen. Bij toepassing van tracer kan de methode vaak niet worden gebruikt vanwege tracerrecycling. In het geval van glucose is dit nader te verduidelijken. Algemeen wordt aangenomen dat de belangrijkste barrière in de glucoseverwerking ("rate limiting step") is gelegen op cellulair niveau (zie Hoofdstuk 2.). De barrière zou kunnen liggen ter plaatse van het transport over de celmembraan of in de keten van metabole stappen die wordt aangeduid met de term "post-receptorverwerking". Wat ook de exacte localisatie moge zijn, het is onomstreden dat de uitwisseling van vrije glucose met extracellulaire deelcompartimenten (bijvoorbeeld bloed of extracellulair water) vele malen sneller gaat dan het transport naar de cel. Bij het staken van glucose- of tracerinfusie zal, omdat de uitwisselingsnelheid in bloed zo hoog is in verhouding tot de verwijderingssnelheid, de gemeten verandering van de glucoseconcentratie al vrijwel direct na het staken van de infusie representatief zijn voor de verandering in het gehele verdelingsvolume. Het "dreigende" dis-equilibrium dat zou ontstaan door de doorgaande (relatief langzame) glucoseonttrekking aan het volume kan gemakkelijk worden "bijgehouden" door de (relatief snelle) verdeling van vrije glucose in het compartiment dat voor meting van de concentratie werd gebruikt. De verhoudingen tussen de concentraties van de compartimenten zullen dan na korte tijd al niet meer veranderen en dat was juist een belangrijke voorwaarde voor een betrouwbare meting van het verdelingsvolume.

## 7. ALGEMEEN PRINCIPE.

Zoals al naar voren is gekomen, is het principe van een volumemeting gebaseerd op het abrupt teweegbrengen van een verandering in glucose- of tracerconcentratie bij een compartimentensysteem dat op zo'n moment in evenwicht verkeert. De grootte van de teweegebrachte concentratieverandering, exact bepaald (of berekend) op  $t=0$ , is omgekeerd evenredig met het verdelingsvolume. De grootte van de verandering wordt bepaald door het verdelingsvolume en door de grootte van de stimulus die leidde tot die concentratiewijziging. Zeer algemeen geformuleerd geeft dus de hoek die twee grafisch uitgezette glucose- of tracerconcentraties met elkaar maken na starten of staken van glucose of tracer de verandering weer die een maat is voor het verdelingsvolume.

Zoals eerder werd aangegeven, zijn de eenvoudigste situaties die waarbij wordt uitgegaan van een stabiel glucoseniveau. Na registratie hiervan induceert men de concentratieverandering. Indien beide lijnen (die de concentratie weergeven) recht zijn, is de hoek tussen beide eenvoudig te bepalen. Het is echter ook toegestaan dat de glucoseconcentratie voor de verandering in een stijgende of dalende lijn is. Ook hier geldt weer dat de hoek bij twee rechte lijnen dan eenvoudig is te berekenen. Het wel of niet aanwezig zijn van glucoseinfusie voor en na de verandering is ook niet relevant, net zo min als het feit of de glucoseinfusie ervoor of erna van gelijke grootte is. Het verschil tussen beide infusies moet wel bekend zijn. Het is vanzelfsprekend dat het insuline-effect voor en na de verandering gelijk moet zijn, omdat verandering hiervan leidt tot een niet-evenwichtstoestand.

Indien de glucose- of tracerconcentratie niet lineair stijgt of daalt wordt aangenomen dat de veranderingen van deze kromme een natuurlijk-logaritmische functie (mono-exponentiële functie) zijn. Bij het uitzetten op semi-logaritmisch papier ontstaat dan een rechte lijn. Zelfs als de verandering van de concentratie geen mono-exponentiële functie zou zijn, is met een andere vorm van "curvefitting" toch ook het verloop van de lijn in een functie vast te leggen. In beide gevallen is het met de gevonden functie mogelijk door retropolatie de concentratieverandering op  $t=0$  te berekenen. Men kan dan stellen dat de evenwichtssituatie op  $t=0$  benaderbaar is van zowel "de kant voor" als van "de kant na" de verandering. Op  $t=0$  geldt dan:

$$V \times -dG/dt = DR_1 - DR_2 = \Delta DR$$

$V$  = Het verdelingsvolume van glucose.

$dG/dt$  = De verandering van de glucoseconcentratie in de tijd.

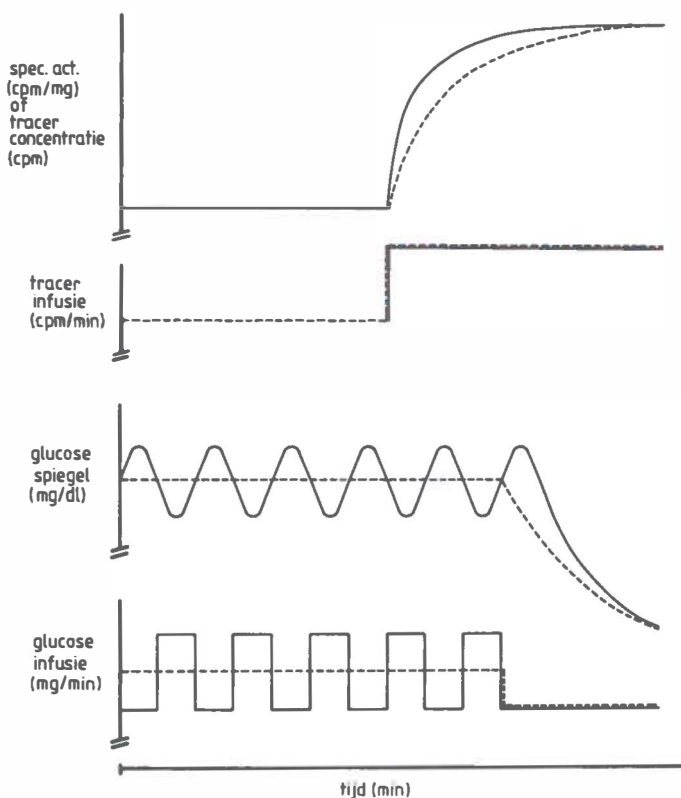
$DR$  = Dextrose rate, de glucosetoevoer voor en na de verandering (1= ervoor of 2= erna).

In bijvoorbeeld de situatie met het abrupt staken van de glucosetoevoer zijn alle parameters van deze vergelijking te meten, zodat  $V$  (het verdelingsvolume van glucose) is te berekenen.

## 8. TECHNISCHE PROBLEMEN (Zie fig. 4.2. en fig. 4.3.).

Er is een potentieel probleem dat zich kan voordoen bij methoden waarbij géén gebruik wordt gemaakt van tracer. Het karakteristieke verschil met tracermethoden is dat de glucoseconcentratie reeel gaat veranderen. Bij de tracermethode verandert de glucoseconcentratie namelijk niet, de tracerconcentratie wél. Het is denkbaar dat de verandering van de glucoseconcentratie hormonale effecten teweeg brengt die de lijn die de veranderingen van de glucoseconcentratie weergeeft, maakt tot een *niet* mono-exponentiële functie. Bij de door ons gebruikte methode (abrupt staken van de glucoseinfusie) kan bij lage glucosespiegels contraregulatie zo'n effect geven. Vanaf het moment dat dit het geval is, is de curve verder onbruikbaar voor mono-exponentiële "curvefitting". Door het uitzetten van de veranderingen op semi-logaritmisch papier kan worden bepaald waar de curve afbuigt. Strikt genomen zou zelfs contraregulatie geen bezwaar zijn, indien men zou stellen dat dit proces vanaf het begin van de verandering als een continue wiskundige functie zou plaatsvinden. Immers, dan zou wederom curvefitting mogelijk zijn en een betrouwbare verandering op  $t=0$  gevonden kunnen worden. Er zijn echter zoveel aanwijzingen dat contraregulatie in het lagere glucosetraject wel een abrupt optredend proces is, dat het niet "veilig" lijkt om glucosespiegels die lager zijn dan 70 mg/dl in de berekeningen te betrekken. Dit criterium is dan ook steeds door ons aangehouden. Boven dit niveau werden in alle gevallen veranderingen van de glucoseconcentraties gezien die als een mono-exponentiële functie waren te beschrijven. Bij enkele patiënten zonder intacte contraregulatie bij een glucosespiegel lager dan 70 mg/dl zagen wij dat de veranderingen van de glucoseconcentratie over een nog veel langer traject van het natuurlijk logaritmische type bleven.

Een ander probleem is het navolgende. Reeds vele malen is geschreven dat een evenwichtssituatie tussen de veronderstelde compartimenten een absolute voorwaarde is voor betrouwbare berekeningen. Bij de methode van het abrupt staken van de glucoseinfusie kan de initiële daling van de glucoseconcentratie onevenredig snel verlopen (zie fig. 4.2.). Dit laatste betekent dus dat de veranderingen van deze curve niet voldoen aan een mono-exponentieel verloop. Dit lijkt op het eerste gezicht vreemd, daar in het voorgaande is beargumenteerd dat er vrijwel direct na het staken van de glucoseinfusie evenwicht is tussen de compartimenten, zulks in tegenstelling tot de opstellingen met een bolus of het starten van een infusie van glucose of tracer. Doordat de glucosetoevoer bij een "glucoseclamp" continu schommelt rond een gemiddelde waarde die benodigd is voor het handhaven van het glucoseniveau kan het zijn dat vlak voordat de clamp wordt beëindigd er nog gedurende enkele minuten meer glucose is geïnfundeerd dan de werkelijke behoefte was voor handhaving van het streefniveau. Dit geeft dan uiteraard een tijdelijke verstoring van het noodzakelijke evenwicht. In het bloed is de glucoseconcentratie enkele minuten wat hoger dan "past" bij de evenwichtstoestand. Gedurende enige minuten na het staken van de glucosetoevoer leidt dit tot een sneller dalen van de glucosespiegel dan men had verwacht. Na weer enkele minuten is het evenwicht tussen de compartimenten hersteld. Dit probleem is geheel vergelijkbaar met het dis-equilibrium, zoals dat bekend is van tracermethoden (bolus of starten van een "square wave"-infusie), hoewel de absolute grootte ervan nog steeds veel geringer is dan bij de tracermethoden. Om het risico uit te sluiten metingen te doen in een dis-

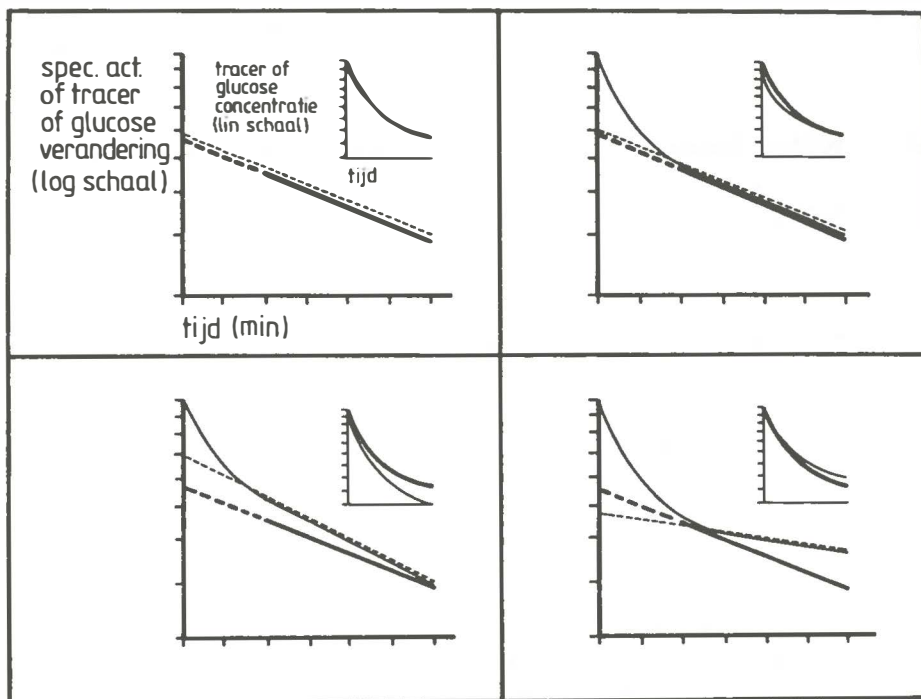


**Figuur 4.2.:** Verstoring van het evenwicht. Boven: Het tijdelijke niet-evenwicht bij de Biostator na staken van de glucoseinfusie. Onder: De vergelijkbare situatie na injectie van een bolus (glucose of tracer). De stippellijn is de ideale situatie, de doorgetrokken lijn is de gevonden concentratie van glucose of tracer. (Schematische weergave).

equilibrium werden door ons de glucosespiegels van de eerste 10 min na het staken van de glucoseinfusie niet gebruikt voor de berekeningen. Het gevolg van het toch in de berekeningen gebruiken van een te snelle daling is het vinden van een te grote verandering met als gevolg dat men een kleiner verdelingsvolume vindt dan reeel is.

Bij tracermethoden is er het reeds terloops aangestipte probleem van "recycling" (zie fig. 4.3.). Het opnieuw in de glucose "pool" verschijnen van "tracer", terwijl er bij de hypothese van wordt uitgegaan dat dit niet gebeurt, leidt tot foutieve uitkomsten in de volumeberekening. Na een tracerbolus daalt dan de concentratie niet snel genoeg en bij een rechthoekige infusie is de eindconcentratie te hoog. Al is het percentage "recycling" steeds gelijk, absoluut neemt de "recycling" steeds meer toe. Bij het semilogaritmisch uitzetten van de verandering in de tracerconcentratie (of de specifieke activiteit, zie verder), geeft een kleine verandering in de helling van de lijn (veroorzaakt door "recycling") een grote fout bij de retropolatie naar  $t=0$  (de verandering van de concentratie op  $t=0$ ). Dit leidt tot het vinden van een foutief verdelingsvolume.





**Figuur 4.3.:** Problemen bij het bepalen van de verandering van de tracerconcentratie of de verandering van de specifieke activiteit Inzet: De tracer- of glucoseconcentratie in bloed. De vette lijn is de ideale situatie. De dunne doorgetrokken lijn is de gevonden situatie. De stippellijn is de geretropoleerde dunne lijn naar  $t=0$ . Links boven: De ideale situatie (de dunne lijn valt samen met de dikke lijn). Rechts boven: Instelling van een evenwicht pas na enige tijd (bij juiste retropolatie leidend tot een betrouwbaar Y-intercept). Links onder: De verandering van de concentratie blijft gedurende de gehele meting groter dan representatief voor het verdelingsvolume (leidt tot fout Y-intercept). Rechts onder: "Recycling" (leidt tot fout Y-intercept).

## 9. MATHEMATIEK.

Hoewel er dus tussen de methode waarbij glucose of tracer wordt gestaakt, geen principiële verschillen zijn in de uitvoering en in de berekeningen bij de bepaling van het glucoseverdelingsvolume, zullen beide methoden toch worden besproken.

Men is gewend de tracerconcentratie te relateren aan de concentratie van de glucose. De definitie van dit begrip is:

**SPECIFIEKE ACTIVITEIT:** De concentratie van tracer op elk willekeurig moment (bijvoorbeeld in "counts per minute" bij radioactieve tracers of in mg/dl bij gebruik van stabiele isotopen) gedeeld door de concentratie van glucose op dat moment.

Aangezien de concentratie van de glucose bij tracerexperimenten in het algemeen constant wordt gehouden, representeert de specifieke activiteit dus eenvoudig een getal waardoor tracerconcentraties moeten worden gedeeld om te komen tot uitkomsten die

gelden voor glucose. Er is dus geen wezenlijk verschil tussen het werken met specifieke activiteit of met de verandering van de glucoseconcentratie ten opzichte van  $t=0$ . Op  $t=0$  geldt het volgende:

#### GLUCOSEMETHODE:

$$V_{gl0} = DR_0 / (-dG/dt)$$

$$P_{gl0} = G_0 \times V_{gl}$$

#### TRACERMETHODE:

$$V_{tr} = TR_0 / (-dT/dt)$$

$$P_{tr0} = T_0 \times V_{tr}$$

$V_{gl}$  is per definitie gelijk aan  $V_{tr}$  zodat volgt:

$$P_{gl0} / G_0 = P_{tr0} / T_0 \quad \text{--->} P_{tr0} / P_{gl0} = SA \quad \text{--->} P_{gl0} = P_{tr0} / SA$$

$$P_{gl0} = (T_0 / SA) \times V_{gltr} \quad \text{--->} P_{gl0} = (G_0 \times SA) / SA \times V_{gltr} \text{ dus:}$$

$$P_{gl0} = G_0 \times V_{gl}$$

waarbij  $V_{gl}$  = Verdelingsvolume van glucose,  $V_{tr}$  = Verdelingsvolume van tracer,  $V_{gltr}$  = Verdelingsvolume van zowel glucose als tracer,  $DR_0$  = Dextrose "rate" op  $t=0$ ,  $TR_0$  = Tracer "rate" op  $t=0$ ,  $G$  = Glucoseconcentratie,  $T$  = Tracerconcentratie,  $P_{gl0}$  = "Glucose pool" op  $t=0$ ,  $P_{tr0}$  = Tracer "pool" op  $t=0$  en  $SA$  = Specifieke activiteit.

Voor de volledigheid moeten nog kort twee begrippen worden besproken:

**"TURNOVER" TIJD:** De tijd die nodig is om uit het gehele verdelingsvolume een hoeveelheid ter grootte van de "pool" te verwijderen. De grootte van de "turnover" tijd kan worden afgeleid uit de verdwijningsconstante  $k$  (de "turnover tijd" is  $1/k$ ):

De afneming van de specifieke activiteit ( $SA$ ) wordt voorgesteld door de functie:

$$SA_t = SA_0 \times e^{-kt}$$

waarbij  $SA$  = specifieke activiteit op resp.  $t=0$  en  $t=t$  is en  $k$  = hellings (verdwijnings) constante. Na een halfwaardetijd is  $SA_t$  dus gelijk aan  $1/2 SA_0$ . Daaruit volgt dat:

$$e^{-kt_{1/2}} = 1/2 \quad \text{--->} \ln e^{-kt_{1/2}} = \ln 1/2 \quad \text{--->} -kt_{1/2} = \ln 1 - \ln 2$$

$$k = \ln 2 / t_{1/2}$$

Dus de "turnover tijd" is:  $1/k$  en gelijk aan  $t_{1/2} / \ln 2$ . Hoe groter  $k$ , hoe groter de helling van de lijn en hoe kleiner de "turnover tijd".



## 10. SAMENVATTING.

In het voorgaande werd (ondermeer) een praktische methode besproken om het verdelingsvolume van glucose vast te stellen zonder dat hiervoor een tracerinfusie noodzakelijk is. De methode behelst het abrupt staken van een glucoseinfusie in een situatie die verder constant wordt gehouden. Er werd besproken en beargumenteerd dat de methode niet principieel verschilt van methoden met tracers waarbij de tracerinfusie abrupt wordt gestopt. Er wordt gebruik gemaakt van dezelfde formules en postulaten. Essentiële verschillen met methoden waarbij gebruik wordt gemaakt van een bolus werden aangegeven. Voor- en nadelen van de diverse methoden werden vergeleken en potentiële foutenbronnen werden besproken. Bij de geïntroduceerde methode is in dit verband belangrijk dat "recycling" geen storende factor is (zoals bij het gebruik van tracers vaak wel het geval is). Verder is er de mogelijkheid een relatief lange equilibratietijd te gebruiken (zoals bij het gebruik van tracers niet mogelijk is). Een ander voordeel van de door ons gebruikte methode is dat die gemakkelijk in een bepaalde proefopstelling kan worden opgenomen, zodat daarna bij de berekeningen gebruik gemaakt kan worden van het *eigen*, op dat moment bestaande, verdelingsvolume van de patiënt. De meeste onderzoekers werken met een standaardvolume, dat voor iedereen gelijk wordt verondersteld. Er zijn echter voldoende argumenten gevonden om te stellen dat het verdelingsvolume geen onveranderlijke grootte is (zie ook Hoofdstuk 1).



## VORMEN VAN GLUCOSEVERWERKING.

Dit hoofdstuk is ingedeeld in:

1. Inleiding.
2. Glucoseproductie en utilisatie als netto-effect (de glucosebehoefte).
3. Glucose afhankelijke en glucose onafhankelijke glucosebehoefte.
4. Praktijk van de berekeningen.
5. Samenvatting.

### 1. INLEIDING.

Een glucoseverwerkend organisme is fysiologisch gezien een "black box" waarin glucoseverwerking (metabolisme; chemische omzetting tot andere metabolieten en/of energie) plaats vindt. Drie processen vormen de basis van dit systeem:

1. Glucosetoevoer.
2. Glucosemetabolisme.
3. Glucoseverlies.



Dit leidt tot de volgende definities:

**GLUCOSETOEVOER:** Alle glucose die vanuit de buitenwereld aan een systeem wordt toegevoerd. Voorbeelden zijn orale glucoseconsumptie en intraveneuze glucose-toediening.

**GLUCOSEVERLIES:** Elke vorm van actieve of passieve onttrekking van glucose aan een systeem. Voorbeelden zijn glucoseverlies in de urine en glucoseverlies over een dialysemembraan.

**GLUCOSEMETABOLISME:** Elk proces in de "black box" waarin glucose wordt betrokken, behalve glucosetoevoer en glucoseverlies.

**GLUCOSEPOOL:** De totale hoeveelheid *vrije, uitwisselbare glucose* (dus geen glucosemetabolieten) die zich in de "black box" bevindt en die zich over het gehele glucoseverdelingsvolume (zie hieronder) kan verdelen. Glucose, in welke gebonden vorm dan ook, behoort dus niet tot de pool. Vrije glucose die niet kan uitwisselen met het verdelingsvolume (zie hierna) behoort ook niet tot de pool. De glucosepool wordt uitgedrukt in gewichtseenheden en is de glucoseconcentratie in het bloed maal het glucoseverdelingsvolume.

**GLUCOSE(VERDELINGS)VOLUME:** Dat deel van het volume van de "black box" waarin de vrije uitwisselbare glucose zich kan verdelen (uitgedrukt in volume-eenheden). Het glucoseverdelingsvolume is de glucose pool gedeeld door de glucose-concentratie in het bloed.

Toelichting: De "pool" wordt berekend door vermenigvuldiging van het verdelingsvolume met de glucoseconcentratie (bijvoorbeeld in het bloed). De vraag kan rijzen of men tot een andere poolgrootte zou komen indien men de glucoseconcentratie zou meten in een ander compartiment van het verdelingsvolume waar de glucoseconcentratie misschien lager is. Dit is niet het geval, want bij meting op deze plaats zou men ook tot een ander (in dit geval groter) volume komen. De poolgrootte valt dan net zo uit als in het eerste geval. Dus de volumegrootte en de glucoseconcentratie wisselen bij (verschillende) plaats van meting, terwijl de poolgrootte in een gestandaardiseerde situatie onveranderlijk is. Strikt formeel zou men het volume dan niet moeten uitdrukken in bijvoorbeeld milliliters maar in milliliters-bloed-equivalenten (in ons geval).

Bij de beschouwing van een systeem, als boven weergegeven, kunnen twee potentiële variabelen exact worden bepaald: zowel de glucosetoevoer als het verlies kunnen worden gemeten. Vervolgens postuleert men dat gedurende een experiment het glucoseverdelingsvolume zich niet wijzigt. Dit is een tamelijk triviaal postulaat, want men doet het in elk experiment: Er is dan één variabele die gewijzigd wordt en men meet de afhankelijke variabele door aan te nemen dat de rest van het systeem gedurende de meting geen verandering ondergaat en geen invloed uitoefent op de afhankelijke variabele. Indien men de glucoseconcentratie in het glucoseverdelingsvolume gaat meten is een wijziging van de aldus gemeten concentratie recht evenredig met een wijziging van de glucose pool (na een eventuele correctie voor veranderingen in glucosetoevoer of glucoseafvoer).

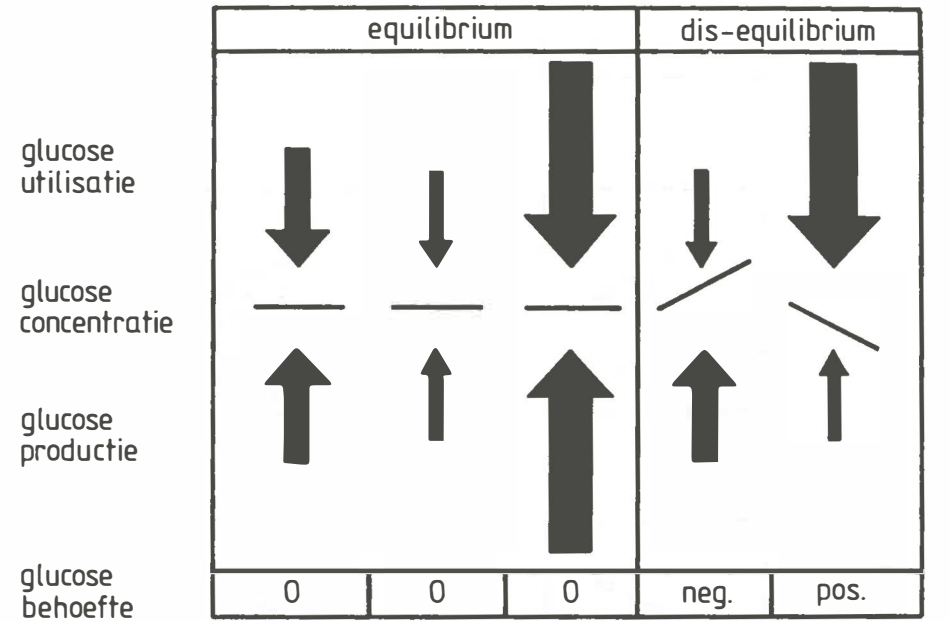
De glucoseconcentratie in het glucoseverdelingsvolume wordt dus bepaald door toevoer, afvoer en metabolisme. Dit laatste is nu voor verdere specificering vatbaar. De 2 fundamentele processen waaruit het glucosemetabolisme bestaat zijn glucoseproductie en utilisatie. Ze kunnen worden gedefinieerd:

**GLUCOSEPRODUCTIE:** Die metabole processen die (bij gelijkblijven van alle andere variabelen) leiden tot stijging van de glucoseconcentratie in het glucoseverdelingsvolume. Voorbeelden zijn de glucoseproductie door de lever en door de nier. Onder deze fysiologische definitie vallen dus zowel glucogenese, gluconeogenese en glycogenolyse.

**GLUCOSEUTILISATIE:** Die metabole processen die (bij gelijkblijven van alle andere variabelen) leiden tot daling van de glucoseconcentratie in het glucoseverdelingsvolume. Een voorbeeld is de glucoseutilisatie door de spieren.

Indien in een organisme glucosetoevoer en glucoseafvoer beiden gelijk aan nul zijn (of ervoor wordt gecorrigeerd) en de glucoseconcentratie in het verdelingsvolume constant is, moet er een evenwicht zijn tussen glucoseproductie en glucoseutilisatie. In dat geval kunnen de beide parameters zowel zéér groot als zéér klein zijn (zie fig. 5.1.). Stijgt de glucoseconcentratie dan moet de productie groter zijn dan de utilisatie, maar over absolute hoeveelheden kan geen uitspraak worden gedaan. Voor een daling van de glucoseconcentratie geldt het omgekeerde. Door gebruik te maken van een tracermethode kan bij een stabiele glucoseconcentratie wel worden onderscheiden wat het kwantitatieve aandeel is van productie en utilisatie. Indien nu uitgaande van een evenwichtstoestand (glucoseconcentratie) een variabele zoals bijvoorbeeld de insulineconcentratie wordt gewijzigd, dan zal ook de glucoseconcentratie zich wijzigen. Dit betekent dat er in die omstandigheden geen evenwicht meer is tussen glucoseproductie en glucoseutilisatie. In tegenstelling tot de evenwichtssituatie waarin geen kwantitatieve

uitspraken waren te doen zonder van een tracer gebruik te maken, kan nu wèl de *verandering* van het totaal aan glucose producerende en glucose utiliserende processen (in mg/m<sup>2</sup>/min) worden vastgelegd. Het is dus van belang om onderscheid te maken tussen glucoseproductie en utilisatie in engere zin (tracer) en *verandering* van het totaal aan producerende en utiliserende processen (dit onderzoek).



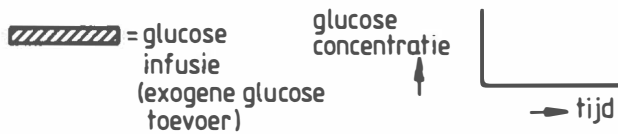
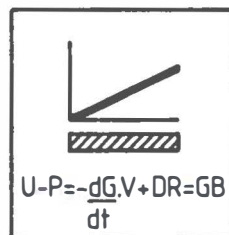
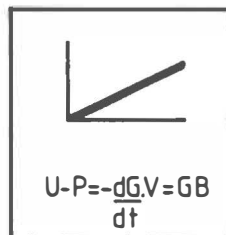
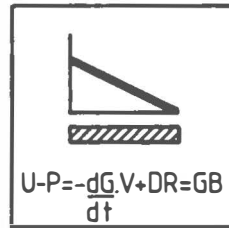
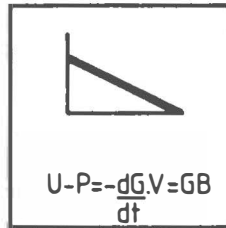
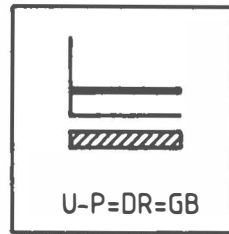
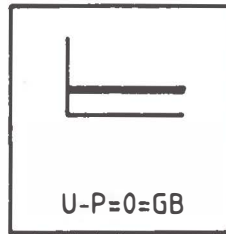
**Figuur 5.1.:** Glucosebehoefte (utilisatie minus productie) in alle principiële verschillende situaties met en zonder glucoseinfusie.

## 2. GLUCOSEPRODUCTIE EN UTILISATIE ALS NETTO-EFFECT (DE GLUCOSEBEHOEFTE).

Aannemende, dat in ons systeem de glucoseafvoer gelijk aan nul is, of bekend is, zodat ervoor kan worden gecorrigeerd, zal bij een dalende glucoseconcentratie de glucose-utilisatie groter zijn dan de glucoseproductie. Bij een stijgende glucoseconcentratie overheerst de productie over de utilisatie. Op diverse manieren is het mogelijk een kwantitatieve uitspraak te doen over de mate waarin de ene parameter groter of kleiner is dan de andere, het verschil dus tussen beide.

### OVERHEERSENDE GLUCOSEUTILISATIE.

Het kwantitatief vaststellen van de mate waarin de glucoseutilisatie de glucoseproductie overheerst kan op 2 manieren worden gedaan:



$U$  = glucose utilisatie  
 $P$  = glucose productie  
 $GB$  = glucose behoefte  
 $DR$  = exogene glucose toevoer  
 $V$  = glucose volume  
 $\frac{dG}{dt}$  = verandering van de glucose concentratie in de tijd

**Figuur 5.2.:** Voorstelling van het begrip glucosebehoefte.

1. **"GLUCOSE CLAMP"**: Aan het systeem wordt per tijdseenheid net zoveel glucose toegevoerd (glucosetoevoer) als nodig blijkt te zijn om de glucoseconcentratie constant te houden.

2. **REGISTRATIE GLUCOSECONCENTRATIE**: De daling van de glucoseconcentratie wordt vastgelegd zonder dat geïntervenieerd wordt door middel van glucosetoevoer. Met behulp van de daling van de glucoseconcentratie per tijdseenheid kan worden vastgesteld wat de grootte is van de per tijdseenheid méér geutiliseerde dan geproduceerde glucose in een bepaald volume. Er kan bijvoorbeeld worden vastgesteld dat de utilisatie de productie overtreft, omdat de glucoseconcentratie in het verdelingsvolume daalt met b.v. 2 mg/dl/min. Bij een bekende grootte van het verdelingsvolume, bij elke willekeurige glucoseconcentratie, staat dan de absolute grootte van het aantal mg/min dat de utilisatie de productie overtreft vast (zie fig. 5.2.). Los hiervan bestaat nog de mogelijkheid om de verandering van de glucosebehoefte in relatie tot de glucoseconcentratie vast te stellen (zie verder bij de bespreking van de "dose-responsecurves").

### **OVERHEERSENDE GLUCOSEPRODUCTIE.**

Het vaststellen van de omvang van het overheersen van de glucoseproductie over de glucoseutilisatie is slechts op één manier mogelijk:

1. **REGISTRATIE GLUCOSECONCENTRATIE**: De methode is geheel analoog aan die welke beschreven werd bij de situatie waarin de utilisatie overheerst over de productie (zie boven). Een "glucose clamp" met behulp van glucose is in deze situatie uiteraard niet mogelijk, aangezien het onmogelijk is om actief glucose aan het systeem te onttrekken. Het geven van een negatieve glucoseinfusie is alleen als gedachtenexperiment mogelijk. Toch is de term negatieve glucoseinfusie niet inhoudsloos. Met een negatieve glucoseinfusie (lees eventueel glucoseonttrekking aan het systeem) had de glucosesijging voorkomen kunnen worden (negatieve "glucose clamp").

Dit leidt tot de volgende definitie:

2. **GLUCOSEBEHOEFTE**: De hoeveelheid glucose die geïnfundeerd zou moeten worden om de glucoseconcentratie gelijk te doen blijven. De glucosebehoefte is een kwantitatieve maat voor het verschil in glucoseproductie en glucoseutilisatie. Na het voorgaande is duidelijk dat de glucosebehoefte positief kan zijn (meer utilisatie dan productie) maar ook negatief (meer productie dan utilisatie).

### **3. GLUCOSE AFHANKELIJKE EN GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE.**

Hormonen en glucose zelf hebben invloed op glucoseproductie en glucoseutilisatie en dus ook op de glucosebehoefte. Insuline en haar antagonisten zijn het beste onderzocht. Ook de glucosespiegel heeft dus invloed op productie en utilisatie. Om de invloed van deze variabelen te onderzoeken zijn er de volgende mogelijkheden:

1. Het is mogelijk om een dose-responsecurve te maken van een dergelijke variabele tegen bijvoorbeeld glucoseproductie of tegen glucoseutilisatie afzonderlijk (met behulp van tracer).

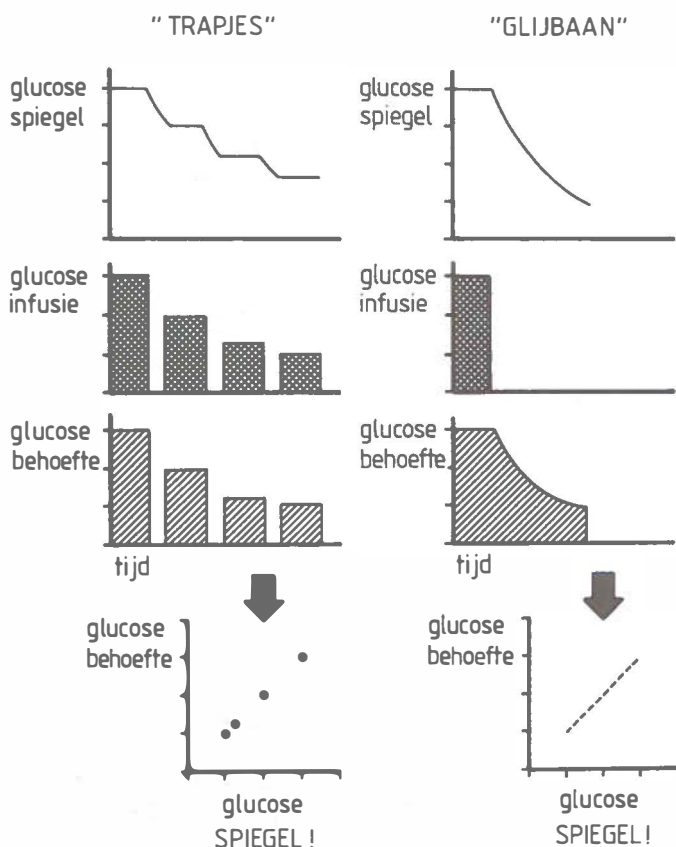


2. Het is mogelijk om een dose-responsecurve te maken van een dergelijke variabele tegen het netto-effect van glucoseproductie en glucoseutilisatie te weten de glucosebehoefte (zie eerder).

Er zijn in de literatuur geen betrouwbare dose-responsecurves bij de mens bekend van de invloed van insulineantagonisten (contraregulerende hormonen) op glucoseproductie en utilisatie. Wel is dat het geval voor glucose en insuline.

Het navolgende zal verder hoofdzakelijk gaan over dose-responsecurves van glucose ten opzichte van de glucosebehoefte. Er zijn 2 verschillende mogelijkheden om een dose-responsecurve te construeren.

**1. TRAPJESMETHODE** (zie fig. 5.3.): Men kan de variabele discontinu wijzigen en de afhankelijke variabele continu registreren of berekenen. Een voorbeeld is het clampen van de glucoseconcentratie op 100 mg/dl gedurende 60 min en gedurende die tijd de glucosebehoefte vaststellen. Daarna clampen van de glucoseconcentratie gedurende 60 min op 80 mg/dl en wederom vaststellen van de glucosebehoefte. Daarna op 60 mg/dl enz. De curve is uit de afzonderlijke meetpunten vast te stellen. Het aantal on-



**Figuur 5.3.:** Samenstellen van een dose-responsecurve tussen de glucoseconcentratie en de glucosebehoefte met behulp van de "trapjesmethode" en de "glijbaanmethode".

derzochte punten wordt bepaald door de nauwkeurigheid die men wil bereiken. De nauwkeurigheid wordt uiteraard mede bepaald door de variabiliteit van de waarnemingen.

**2. GLIJBAANMETHODE** (zie fig. 5.3.): Hier is sprake van een continue wijziging van de variabele zonder dat er sprake is van "trapjes". De afhankelijke variabele kan ook continu worden bepaald. Een voorbeeld is de door ons toegepaste situatie waarin bij constante insulinetoevoer en een constant insuline-effect met behulp van een dan dus ook constante glucoseinfusie een constante glucoseconcentratie wordt bereikt. Indien de glucosetoevoer abrupt wordt gestaakt is de verandering van de glucoseconcentratie evenredig met de verandering van de glucosebehoefte. Aangezien de curve continu wordt geregistreerd kan naar wens op elk moment de glucosebehoefte als afhankelijke variabele van de glucoseconcentratie worden vastgesteld.

### **VOORDELEN EN NADELEN.**

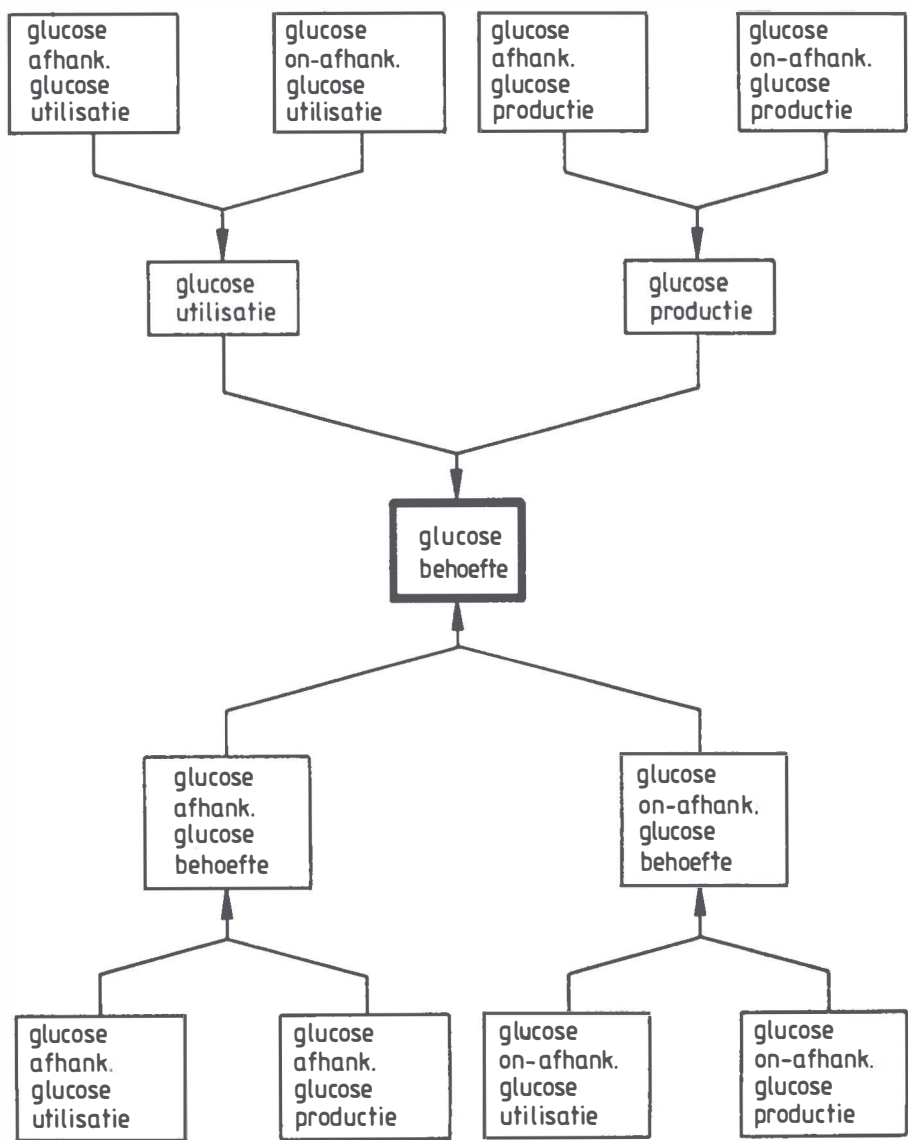
Een belangrijke voorwaarde voor het doen van metingen betreffende de glucosetoevoer of het berekenen van de glucosebehoefte is dat de verandering van de gemeten glucoseconcentratie representatief is voor de glucoseconcentratie van het gehele verdelingsvolume van glucose. Beide methoden voldoen hieraan. Bij de trapjes-methode creëert men steeds een statische situatie, zodat het mogelijk is de dose-responsecurve samen te stellen zonder gebruik te maken van een glucoseverdelingsvolume. De curve wordt dan samengesteld uit twee of meer separate punten. Bij de glijbaan-methode maakt men wel gebruik van het verdelingsvolume. Men kan dynamisch en continu registreren, zodat de dose-responsecurve theoretisch uit oneindig veel punten kan bestaan. Bij de trapjes is het noodzakelijk dat de insulinespiegel zo hoog is dat er altijd sprake is van enige glucosetoevoer, bij welke glucoseconcentratie men ook werkt. Bij de glijbaan is geen glucosetoevoer noodzakelijk en zowel bij stijgende als bij dalende glucoseconcentratie kan men glucosebehoefte berekenen. Bij de trapjesmethode kan het als een voordeel worden opgevat dat de methode onafhankelijk is van het verdelingsvolume van glucose. Bij een eventuele fout in het verdelingsvolume wordt dan immers de meting van de glucosebehoefte niet beïnvloed.

### **AFHANKELIJK EN ONAFHANKELIJK.**

In ons onderzoek is zowel gebruik gemaakt van de trapjesmethode als van de glijbaan-methode. In fase 0 en fase 1 (zie voor uitvoeriger informatie hoofdstuk 7), de fasen met relatief lage insulinetoevoer en verschillende hoogten van de glucoseconcentraties werd de glucosetoevoer als ook de glucosebehoefte bepaald bij 2 verschillende glucoseconcentraties (trapjes-methode). In fase 2 geschiedde dit bij hoge insulinetoevoer bij één insulineconcentratie. In fase 3 (verhoogde insulinetoevoer, zonder glucosetoevoer) werd de glucosebehoefte bepaald met behulp van de glijbaan-methode.

Vooruitlopend op de resultaten moet hier voor de duidelijkheid alvast worden opgemerkt dat er bij dezelfde patiënt veelal een andere dose-responsecurve tussen glucoseconcentratie en glucosebehoefte werd waargenomen bij lage dan bij hoge insulinetoevoer. Anders uitgedrukt, kan men zeggen dat de mate van afhankelijkheid van de

glucosebehoefte van de glucoseconcentratie in het bloed verschilde bij lage en hoge insulinetoevoer. Het gaat hier dus uitdrukkelijk niet om een dose-responsecurve tussen insulineconcentratie en glucosebehoefte, maar tussen glucoseconcentratie en glucosebehoefte. In principe geldt de gevonden dose-responsecurve alleen voor het onderzochte traject van glucoseconcentraties. Zelfs al is de curve voor zover na te gaan lineair dan nog mag niet voetstoots worden aangenomen dat extrapolatie naar een niet onderzocht glucosetraject leidt tot juiste resultaten met betrekking tot de daar dan geconsta-



Figuur 5.4.: Twee verschillende benaderingen van het begrip glucosebehoefte.

teerde glucosebehoefte. De kans op fouten neemt toe, naarmate het onderzochte traject kleiner is of naarmate de extrapolatie groter is. Er is een andere vorm van extrapolatie die echter wel toegepast mag worden en die hierna wordt beschreven.

Indien in een grafiek op de X-as de glucoseconcentratie staat weergegeven en op de Y-as de glucosebehoefte en indien blijkt (of bekend is) dat de dose-responsecurve in het onderzochte traject (bij benadering) lineair is dan leidt extrapolatie van de curve naar de Y-as tot een punt dat weliswaar nooit reël bereikt zou zijn, indien men de glucoseconcentratie had kunnen laten dalen tot 0 mg/dl, maar dat wel representatief is voor het onderzochte traject van de glucoseconcentratie. Deze door extrapolatie verkregen glucosebehoefte bij een theoretische glucoseconcentratie van 0 mg/dl is dus kennelijk een vorm van glucosebehoefte die geen relatie meer heeft met de hoogte van de glucoseconcentratie. Indien het snijpunt met de Y-as ongelijk aan 0 mg/min is, moet geconcludeerd worden dat er in het onderzochte glucoseconcentratietraject kennelijk van de totale glucosebehoefte een deel af te zonderen valt dat glucose(concentratie) onafhankelijke glucosebehoefte genoemd kan worden. Het deel dat wel van de glucoseconcentratie afhankelijk is wordt glucose(concentratie) afhankelijke glucosebehoefte genoemd. Tezamen vormen zij de totale glucosebehoefte, een term die reeds eerder is gedefinieerd.

Exacte omschrijvingen kunnen nu worden gegeven:

**(TOTALE) GLUCOSEBEHOEFTE:** De som (resultante) van de glucose afhankelijke glucosebehoefte en de glucose onafhankelijke glucosebehoefte. Zie eerder voor vergelijking met een anders samengestelde (maar ook juiste) definitie van dit begrip.

**GLUCOSE AFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE:** Dat deel van de totale glucosebehoefte dat bij een bepaalde glucoseconcentratie in grootte beïnvloed wordt door die glucoseconcentratie. Anders uitgedrukt: de totale glucosebehoefte verminderd met de glucose onafhankelijke glucosebehoefte (zie hieronder).

**GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE:** Dat deel van de totale glucosebehoefte dat niet beïnvloed wordt door de glucoseconcentratie. Anders uitgedrukt: de totale glucosebehoefte verminderd met de glucose afhankelijke glucosebehoefte.

Nogmaals wordt opgemerkt dat er nu 2 verschillende definities van het begrip glucosebehoefte zijn gegeven die toch niet tegenstrijdig zijn. Het is alleen zo dat men dus glucosebehoefte op verschillende manieren samengesteld kan zien:

1. Glucosebehoefte is samengesteld uit glucoseutilisatie en glucoseproductie.
2. Glucosebehoefte is samengesteld uit glucose afhankelijke en glucose onafhankelijke glucosebehoefte.

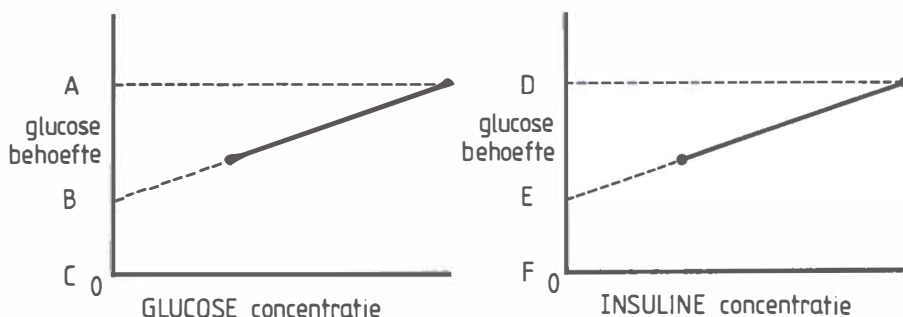
De relatie tussen de diverse de glucosebehoefte samenstellende parameters staat in fig. 5.4. weergegeven en spreekt voor zichzelf. De indelingen sluiten elkaar niet uit maar vullen elkaar aan. Indien men alleen glucoseutilisatie en glucoseproductie meet, is men niet geïnformeerd over de mate van glucose (on)afhankelijkheid van de parameters. Indien men glucose (on)afhankelijke glucosebehoefte meet is men niet geïnformeerd over het exacte aandeel van productie en utilisatie. Over dit laatste zijn echter enkele opmerkingen te maken:

1. Indien de insulinespiegel boven een bepaald niveau is (bijvoorbeeld 100 mE/l) kan men (in het algemeen) stellen dat de glucoseproductie vrijwel geheel onderdrukt is. De gemeten (positieve) glucosebehoefte is dan volledig het gevolg van de glucose-utili-

satie. Er kan een indruk worden verkregen van het glucose afhankelijke en het glucose onafhankelijke aandeel van de glucoseutilisatie, door meting bij verschillende glucosespiegels.

2. Indien men metingen doet waarbij informatie wordt verkregen over de totale glucosebehoefte, dan kan bij een positieve totale glucosebehoefte niet worden uitgemaakt of deze positieve glucosebehoefte gelijk is aan, dan wel kleiner dan, het totale glucoseverbruik. Het is dus in deze situatie niet uit te maken of er geen, weinig, of veel glucoseproductie is. Wanneer er sprake blijkt te zijn van een negatieve totale glucosebehoefte, dan moet er nog met zekerheid sprake zijn van glucoseproductie.

3. Indien men metingen doet met betrekking tot glucose afhankelijke en onafhankelijke glucosebehoefte, dan geldt het navolgende. Als de glucose onafhankelijke glucosebehoefte negatief is, is er ook met zekerheid sprake van glucoseproductie. Later zal nog blijken dat dit onderscheid voor de interpretatie van enkele waarnemingen belangrijk is. Ter adstructie staat in fig. 5.5. een analoge situatie waarbij ook een dose-responsecurve tussen de insulineconcentratie en de glucosebehoefte is weergegeven.



**Figuur 5.5.:** Berekening van de glucose onafhankelijke en de insuline onafhankelijke glucosebehoefte.

## 4. PRAKTIJK VAN DE BEREKENINGEN.

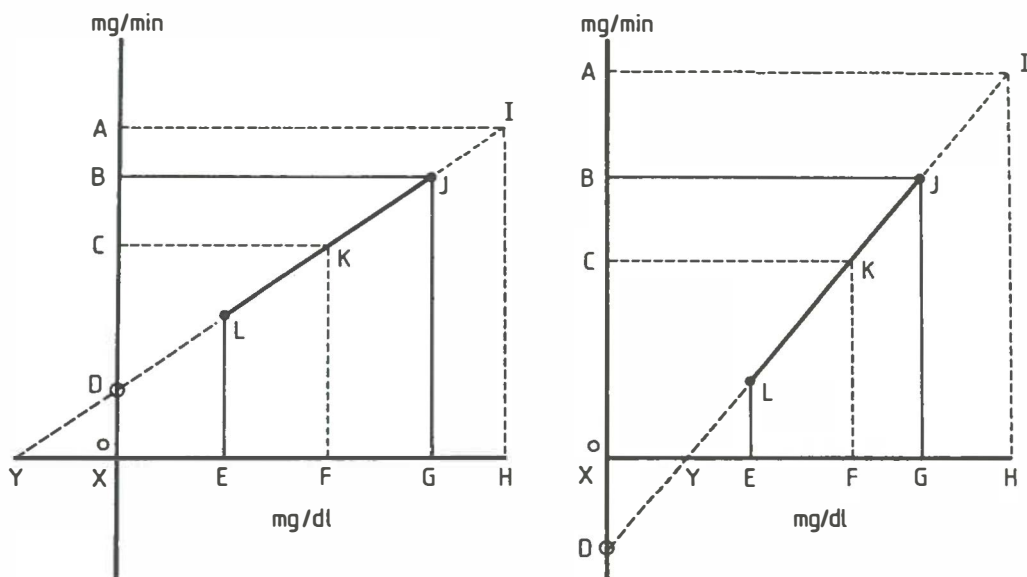
### 1. TRAPJESMETHODE BIJ 2 GLUCOSECONCENTRATIES (zie fig. 5.6.).

1. Bij de hoge glucoseconcentratie (G) wordt de glucosebehoefte (JG) vastgesteld.
2. Bij de lage glucoseconcentratie (E) wordt de glucosebehoefte (EL) vastgesteld.
3. Het verschil tussen de hoge en de lage glucoseconcentratie (EG) wordt berekend.
4. Het verschil tussen de lage glucoseconcentratie en 0 mg/dl (XE) wordt berekend.
5. De lijn LJ wordt naar de Y-as geëxtrapoleerd. Daarna is het punt D bekend.
6. De glucose onafhankelijke glucosebehoefte (DX) wordt berekend door substitutie van EL, JG, XE en EG in de formule:

$$DX = LE - \frac{(JG - EL)}{EG} \times XE$$

7. De glucose afhankelijke glucosebehoefte (DB) wordt berekend door bepaling van het verschil tussen de totale glucosebehoefte (JG) en de glucose onafhankelijke glucosebehoefte (DX).

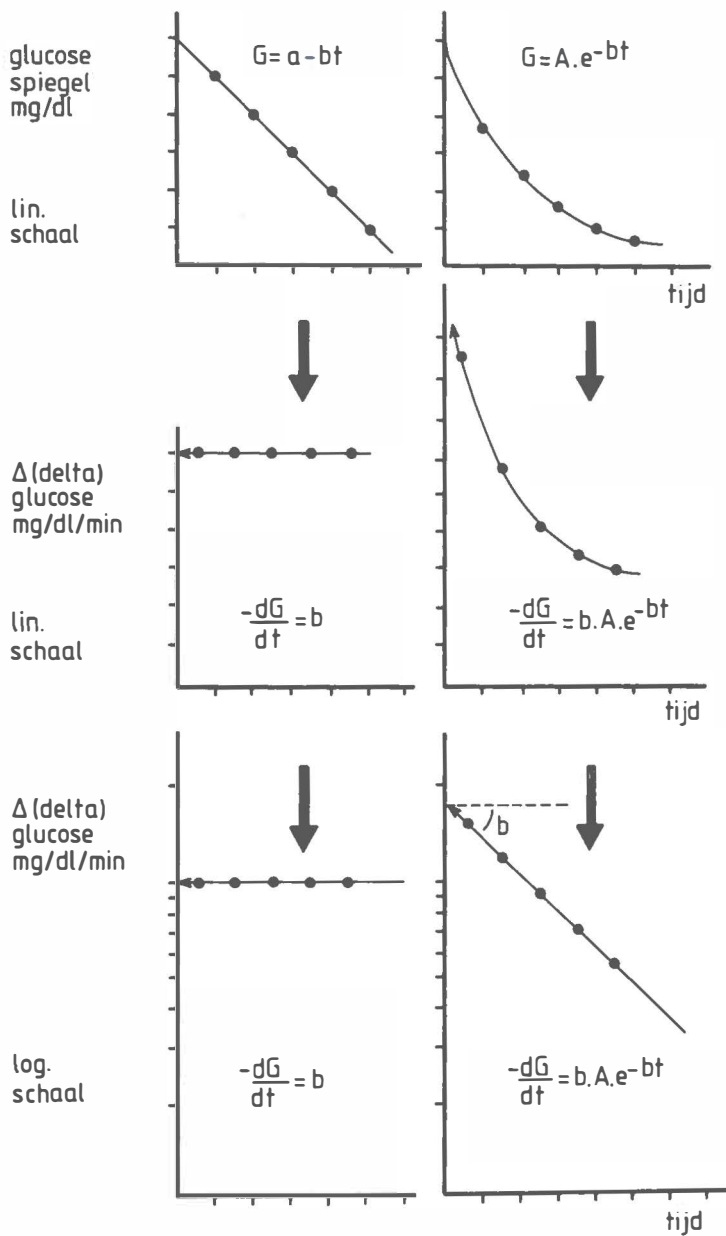
De glucose afhankelijke glucosebehoefte is nu vastgesteld bij de glucoseconcentratie G, maar het is denkbaar dat niet in alle experimenten de bepaling van de glucosebehoefte exact plaatsvond bij de glucoseconcentraties E en G. Wil men dan de glucosebehoefte bepalen bij een andere glucoseconcentratie dan kan, mits het traject niet te groot is, geëxtrapoleerd worden naar willekeurige glucoseconcentraties bijvoorbeeld F of H. Men vindt dan als glucosebehoeften bij die glucoseconcentraties resp. FK en HI. De glucose onafhankelijke glucosebehoeften veranderen uiteraard niet, maar de glucose afhankelijke glucosebehoeften worden bij die glucoseconcentraties resp. DC en DA.



Figuur 5.6.: Dose-responsecurve tussen de glucosebehoefte enerzijds en de glucose- resp. de insulineconcentratie anderzijds. AC en DF = Glucosebehoefte. BC = glucose onafhankelijke glucosebehoefte. EF = Insuline onafhankelijke glucosebehoefte. AB = Glucose afhankelijke glucosebehoefte. DE = Insuline afhankelijke glucosebehoefte.

## 2. GLIJBAANMETHODE (zie fig. 5.6 en fig. 5.7.).

De principes zijn geheel conform de bovenbeschreven methode, met dien verstande dat de dose-responsecurve tussen de glucoseconcentratie en de glucosebehoefte nu niet uit



**Figuur 5.7.:** Principe van glucose (on)afhankelijkheid. Linker kolom: De glucosedaling verloopt lineair (glucose onafhankelijk), rechter kolom: De glucosedaling verloopt gebogen (glucose afhankelijk).



twee, maar uit theoretisch oneindig veel punten is samengesteld. Er wordt een rechte samengesteld met behulp van lineaire regressie door de punten. De punten worden gevonden door de glucosebehoefte eens per vijf minuten uit te rekenen tijdens een glucosedaling; vervolgens worden de punten met de erbij behorende glucoseconcentratie verwerkt in de dose-responsecurve.

### 3. MATHEMATIEK VAN GLUCOSE (ON)AFHANKELIJKHEID.

1. De glucosespiegel wordt (op een lineaire schaal, Y-as) tegen de tijd (X-as) uitgezet. De vorm kan variëren van lineair tot gebogen.
2. Ter verduidelijking kan men de *verandering* van de glucoseconcentratie per tijdseenheid (op een lineaire schaal, Y-as) tegen de tijd (X-as) uitzetten. Daarna volgt curvefitting op de punten. Is de lijn een horizontale rechte, dan is er sprake van volledige onafhankelijkheid van de glucosebehoefte van de glucoseconcentratie.
3. Vervolgens zet men op semi-logaritmisch papier de verandering van de glucoseconcentratie per tijdseenheid (Y-as) uit tegen de tijd (X-as). Daarna volgt curvefitting van de punten. Het Y-intercept geeft de verandering van de glucoseconcentratie op tijdstip nul (het staken van de glucoseinfusie). Wederom geeft een horizontale lijn glucose onafhankelijkheid aan. De hoek (b) die een niet horizontale lijn in dit "plot" maakt met een horizontale lijn geeft de mate aan waarin de glucosebehoefte afhangt van de glucoseconcentratie. ( $b=0$  is dus volledig glucose onafhankelijk).

### 5. SAMENVATTING (zie fig. 5.8.).

#### **GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE:**

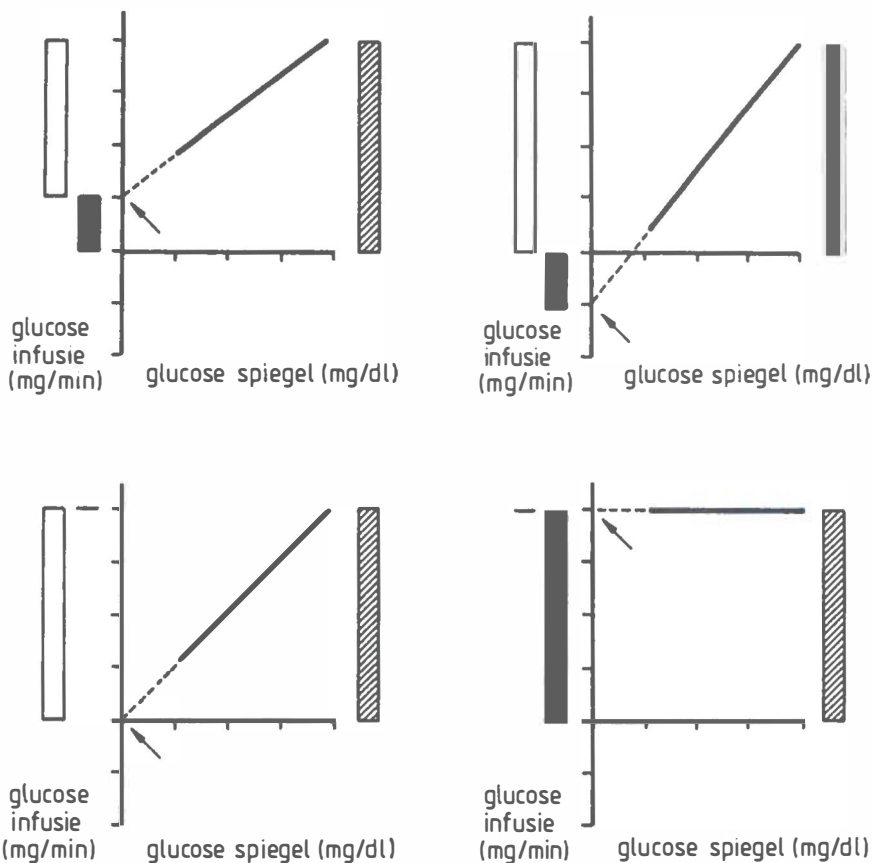
1. Positief, wil zeggen dat er sprake is van glucose onafhankelijke glucoseutilisatie die overheerst over de glucose onafhankelijke glucoseproductie.
2. Gelijk aan nul, wil zeggen dat de glucose onafhankelijke glucoseutilisatie en de glucose onafhankelijke glucoseproductie aan elkaar gelijk zijn.

In dit geval is het netto-effect van alle processen die de glucoseconcentratie bepalen dus volledig afhankelijk van de glucosespiegel.

3. Negatief, wil zeggen dat er sprake is van glucose onafhankelijke glucoseproductie die overheerst over de glucose onafhankelijke glucoseutilisatie. In dit geval is er zekerheid omtrent aantoonbare glucoseproductie (bijvoorbeeld door de lever).

#### **GLUCOSE AFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE:**

1. Positief, wil zeggen dat er sprake is van glucose afhankelijke glucoseutilisatie die overheerst over de glucose afhankelijke glucoseproductie.
2. Gelijk aan nul, wil zeggen dat er noch glucose afhankelijke utilisatie, noch glucose afhankelijke glucoseproductie is. Alleen in theorie is het mogelijk dat beiden aan elkaar gelijk zijn (en niet gelijk aan nul), maar in de praktijk kan dit worden uitgesloten. Bij een waarneming op één glucoseconcentratie zou deze mogelijkheid nog waar kunnen



**Figuur 5.8.:** Variaties in glucose (on)afhankelijkheid van de glucoseconcentratie van de glucosebehoefte. Zwart is glucose onafhankelijke glucosebehoefte, wit is glucose afhankelijke glucosebehoefte, gearceerd is totale glucosebehoefte. Links boven: Positieve glucose afhankelijke en positieve glucose onafhankelijke glucosebehoefte. Rechts boven: Positieve glucose afhankelijke glucosebehoefte en negatieve glucose onafhankelijke glucosebehoefte. Links onder: Positieve glucose afhankelijke glucosebehoefte en een glucose onafhankelijke glucosebehoefte gelijk aan nul. Rechts onder: Positieve glucose onafhankelijke glucosebehoefte en een glucose afhankelijke glucosebehoefte gelijk aan nul (glucose onafhankelijkheid). De bovenste figuren laten een glucosebehoefte zien die "gemengd" is samengesteld, in de onderste figuren bestaat de glucosebehoefte alleen uit glucose afhankelijke of uit onafhankelijke glucosebehoefte.

zijn, maar het is uitermate onwaarschijnlijk dat bij verschillende glucoseconcentraties de effecten op productie en utilisatie steeds exact gelijke tred (in omgekeerde richting) zullen houden. Bij de resultaten (zie later) zal ook blijken dat deze theoretische mogelijkheid dan ook niet bestaat.

3. Negatief, wil zeggen dat er sprake is van glucose afhankelijke glucoseproductie die overheerst over de glucose afhankelijke glucoseutilisatie. Dit komt niet voor, want er is altijd een positieve relatie tussen glucoseconcentratie en glucosebehoefte. In het uiterste geval is er geen relatie, maar er is nooit een negatieve relatie.

## Hoofdstuk 6.

# THEORETISCHE INTEGRATIE VAN VERANDERINGEN IN GLUCOSEVERDELINGSVOLUME EN MATE VAN GLUCOSE (ON)AFHANKELIJKHEID VAN HET GLUCOSEMETABOLISME.

Dit hoofdstuk is ingedeeld in:

- |   |  |
|---|--|
| 1. Inleiding.   | 12. Veranderingen in de compartimenten.    |
| 2. Michaelis-Menten kinetiek.                                   | 13. Verplaatsing tussen de compartimenten. |
| 3. Afkortingen.   | 14. Evenwicht.                             |
| 4. De compartimenten.   | 15. Niet-evenwicht.                        |
| 5. De diffusieconstante.  | 16. Het post-receptordefect.               |
| 6. De transportconstante.                                       | 17. Evenwicht en post-receptordefect.      |
| 7. De snelheidsconstante.                                       | 18. Niet-evenwicht en post-receptordefect. |
| 8. De verhouding $G_2/G_1$ .                                    | 19. Getallen voorbeeld.                    |
| 9. De verhouding $G_3/G_1$ .                                    |  |
| 10. Glucosefluxen.  |  |
| 11. Veranderingen van transport- (c) en snelheidsconstante (k). |  |

## 1. INLEIDING.

Men kan het verdelingsvolume van glucose samengesteld zien uit één tot oneindig veel compartiment(en). De glucosebehoefte kan men samengesteld zien uit glucose afhankelijke en glucose on-afhankelijke glucosebehoefte (zie Hoofdstuk 5). Vervolgens kan men zich afvragen of er een relatie is tussen veranderingen van het verdelingsvolume en veranderingen (in de mate van) glucose afhankelijkheid van de glucosebehoefte. In het onderstaande zal aan de hand van een mathematische benadering worden beredeneerd dat, mits van enkele nog nader aan te duiden hypothesen wordt uitgegaan, een dergelijke relatie inderdaad mogelijk is.

Dit hoofdstuk geeft verder een theoretische uitwerking van algemeen gangbare principes die betrekking hebben op het glucosemetabolisme. De gevolgtrekkingen daarvan vormen een onderbouwing van de bij de experimenten gevonden resultaten.

## 2. MICHAELIS-MENTEN KINETIEK.

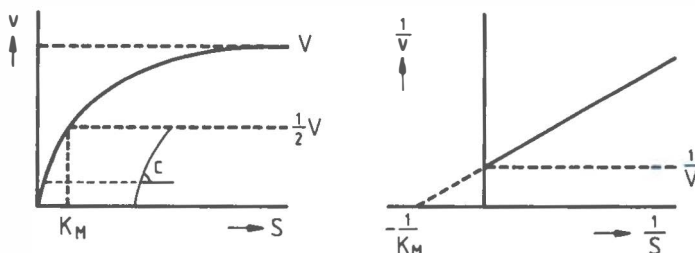
De snelheid van een enzymreactie wordt voornamelijk bepaald door de enzymconcentratie, de temperatuur, de pH en de substraatconcentratie. Bij onderzoek naar glucoseverwerking in vivo zijn met uitzondering van de substraatconcentratie de meeste van deze variabelen constant (te houden). De invloed van de substraatconcentratie op de reaktionsnelheid wordt weergegeven in de zogenaamde Michaelis-Menten vergelijking:

$$v = \frac{VS}{K_m + S}$$

waarbij  $v$  = Reactiesnelheid,  $V$  = Maximale reactiesnelheid bij volledige enzymbezetting (het feit dat er een maximale reactiesnelheid is wil niet zeggen dat de snelheid dus ook groot is),  $K_m$  = Substraatconcentratie die half maximale reactiesnelheid geeft en  $S$  = Willekeurige substraatconcentratie.

Algemeen wordt aangenomen dat het glucosetransport onder normale omstandigheden voldoet aan deze Michaelis-Menten kinetiek<sup>90</sup>. Grafisch uitgezet is dit een hyperbool (zie fig. 6.1.). Een Lineweaver-Burke "plot" is een grafische voorstelling van de "omgekeerde" Michaelis-Menten vergelijking (zie fig. 6.1.):

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V} \times \frac{1}{S} + \frac{1}{V}$$



**Figuur 6.1.:** Links een Michaelis-Menten "plot". Rechts een Lineweaver-Burke "plot". Zie de tekst voor de verklaring van de symbolen. De hoek  $c$  is de snelheidsconstante.

Door bepaling van reactiesnelheden bij diverse substraatconcentraties is het met deze rechte mogelijk om eenvoudig de  $K_m$  en  $V$  te berekenen (of in een grafiek af te lezen) zonder dat  $V$  apart bepaald moet worden. De  $K_m$  van het glucosetransport(systeem) ligt ongeveer bij 10 mmol/l (zie Hoofdstuk 2). Met behulp van genoemde grafieken is nu ook gemakkelijk in te zien dat een enzym, bijvoorbeeld hexokinase, alleen regulerend kan optreden indien de substraatconcentratie ruim onder de  $K_m$  ligt.

Als de glucoseconcentratie ruim onder de  $K_m$  ligt, is de substraatconcentratie in de noemer te verwaarlozen. Aangezien  $K_m$  en  $V$  constanten zijn, wordt de vergelijking dan bij benadering:  $v = \text{Constante} \times S$ . De substraatconcentratie is dan recht evenredig met de reactiesnelheid. Glucosetransport is dus in dit traject voor te stellen als recht evenredig met de glucoseconcentratie. Er is dus sprake van glucose afhankelijkheid van de glucosebehoefte, als het glucosetransport de limiterende stap is. Als de glucoseconcentratie ruim boven de  $K_m$  ligt is de  $K_m$  in de noemer te verwaarlozen. De vergelijking wordt dan bij benadering:  $v = V$ . De reactiesnelheid is dus maximaal en constant geworden. Glucosetransport is in dit traject voor te stellen als zijnde onafhankelijk van de glucoseconcentratie. Er is sprake van glucose onafhankelijkheid van de glucosebehoef-

te. Uit bovenstaande is duidelijk geworden dat voor elk weefsel of voor elke groep van weefsels het totale glucosetransport kan worden ingedeeld in een van glucose afhankelijk en een van glucose onafhankelijk deel. Eén en ander is dus gebaseerd op een nadere uitwerking van de Michaelis-Menten kinetiek. Een reactieconstante (diffusieconstante, transportconstante, snelheidsconstante) in een chemische reactie is gedefinieerd als de reactiesnelheid gedeeld door de stofconcentraties. Een evenwicht heeft 2 reactieconstanten. Een evenwichtsconstante is de ratio tussen de beide reactieconstanten (en ook de ratio tussen de stofconcentraties aan weerszijden van de evenwichtsvergelijking).

In de navolgende berekeningen zullen we er steeds van uitgaan dat in normale fysiologische omstandigheden het glucosetransport verloopt volgens Michaelis-Menten kinetiek, maar er zal ook worden aangegeven waar dit zowel op grond van theoretische overwegingen als op grond van gevonden resultaten waarschijnlijk niet het geval is.

### 3. AFKORTINGEN.

P = Glucoseproductie ( $\text{mg}/\text{m}^2/\text{min}$ ).  
 B = Glucosebehoefte (Glucoseutilisatie - Glucoseproductie);  
 (Glucose afhankelijke + Glucose onafhankelijke glucosebehoefte)  
 ( $\text{mg}/\text{m}^2/\text{min}$ ).  
 DR = Glucosetoevoer (Dextrose rate) ( $\text{mg}/\text{m}^2/\text{min}$ ).  
 M = Maximale, vaste glucoseverwerkingssnelheid ( $\text{mg}/\text{m}^2/\text{min}$ ).  
 Metab = Glucoseverwerking (definitieve glucoseverdwijning) ( $\text{mg}/\text{m}^2/\text{min}$ ).

$V_1$  = Volume 1<sup>e</sup> compartiment (b.v.intravasculair) ( $\text{ml}/\text{m}^2$ ).  
 $V_2$  = Volume 2<sup>e</sup> compartiment (b.v.extravasculair) ( $\text{ml}/\text{m}^2$ ).  
 $V_3$  = Volume 3<sup>e</sup> compartiment (b.v.intracellulair) ( $\text{ml}/\text{m}^2$ ).  
 V = Verdelingsvolume in het algemeen ( $\text{ml}/\text{m}^2$ ).  
 $V_{\text{app}}$  = Functioneel verdelingsvolume ( $\text{ml}/\text{m}^2$ ).

$PL_1$  = glucosepool 1<sup>e</sup> compartiment ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ).  
 $PL_2$  = glucosepool 2<sup>e</sup> compartiment ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ).  
 $PL_3$  = glucosepool 3<sup>e</sup> compartiment ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ).  
 $PL_T$  = Totale glucosepool van alle compartimenten ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ).

$G_1$  = Glucoseconcentratie 1<sup>e</sup> compartiment ( $\text{mg}/\text{dl}$ ).  
 $G_2$  = Glucoseconcentratie 2<sup>e</sup> compartiment ( $\text{mg}/\text{dl}$ ).  
 $G_3$  = Glucoseconcentratie 3<sup>e</sup> compartiment ( $\text{mg}/\text{dl}$ ).  
 G = Glucoseconcentratie in het algemeen ( $\text{mg}/\text{dl}$ ).

f = Diffusieconstante van  $V_1$  naar  $V_2$  ( $\text{sec}^{-1}$ ).  
 c = Transportconstante van  $V_2$  naar  $V_3$  ( $\text{sec}^{-1}$ ).  
 k = Snelheidsconstante van de eerste stap in het cellulaire glucosemetabolisme  
 (b.v. snelheidsconstante van hexokinase)( $\text{sec}^{-1}$ ).

p =  $G_2/G_1$ .  
 q =  $G_3/G_1$ .

#### 4. DE COMPARTIMENTEN.

Het verdelingsvolume van glucose wordt hier en in het volgende verdeeld in 3 compartimenten, maar de naar aanleiding daarvan uitgewerkte formules verschillen niet principieel van die behorende bij een indeling met (desgewenst) oneindig veel compartimenten. Dat er gedacht moet worden in compartimenten is eenvoudig het gevolg van het feit dat er barrières zijn in de vrije uitwisselbaarheid van glucose tussen de compartimenten. Er is voor een drietal gekozen om de berekeningen niet onnodig ingewikkeld te maken en omdat een driedeling het meest aansluit bij ons fysiologisch voorstellingsvermogen. Het 1<sup>e</sup> compartiment ( $V_1$ ) is voor te stellen als het intravasale volume, het 2<sup>e</sup> ( $V_2$ ) als het extravasale volume en het 3<sup>e</sup> ( $V_3$ ) als het intracellulaire volume. De drie "reactieconstanten" die beschreven worden zijn:

de diffusieconstante ( $f$ ) tussen  $V_1$  en  $V_2$ , de transportconstante ( $c$ ) tussen  $V_2$  en  $V_3$  en de snelheidsconstante ( $k$ ) behorende bij de definitieve glucoseverwijdering in  $V_3$ . Het gevolg van de barrières is dat er verschillende glucoseconcentraties ( $G_1$ ,  $G_2$  en  $G_3$ ) zijn in de compartimenten.  $G_1$  is hoger dan  $G_2$  en  $G_2$  is hoger dan  $G_3$ . De verhouding tussen  $G_2$  en  $G_1$  wordt verder  $p$  genoemd, die tussen  $G_3$  en  $G_1$  heet  $q$ .

#### 5. DE DIFFUSIECONSTANTE ( $f$ ).

De diffusieconstante ( $f$ ) is de "reactieconstante" van de diffusie van glucose van  $V_1$  naar  $V_2$ . Onder normale fysiologische omstandigheden vindt de verdeling van glucose vanuit het intravasculaire compartiment naar het extracellulaire compartiment zeer snel plaats, omdat het verdelingsproces louter uit eenvoudige diffusie bestaat. Daarom is de diffusieconstante ( $f$ ) van  $V_1$  naar  $V_2$  vele malen groter dan de transportconstante ( $c$ ) van  $V_2$  naar  $V_3$  of de snelheidsconstante ( $k$ ), die behoort bij de reactie van  $V_3$  naar het definitieve glucosemetabolisme. De diffusieconstante ( $f$ ) bepaalt samen met de transportconstante ( $c$ ) en de snelheidsconstante ( $k$ ) de glucoseconcentraties in de compartimenten en dus ook de verhoudingen van de glucoseconcentraties tussen de compartimenten ( $p$  en  $q$ ). De insulinespiegel heeft geen invloed op de diffusieconstante ( $f$ ). Daarom heeft de diffusieconstante ( $f$ ) ook geen invloed op de veranderingen van de verhoudingen van de glucoseconcentraties ( $p$  en  $q$ ), die wél optreden na wijziging van de insulinespiegel. In de (nog volgende) formules van  $p$  en  $q$  is te zien dat de verhoudingen van de glucoseconcentraties tussen de compartimenten ( $p$  en  $q$ ) niet beschreven kunnen worden zonder dat in de formules de diffusieconstante ( $f$ ) voorkomt.

#### 6. DE TRANSPORTCONSTANTE ( $c$ ).

De transportconstante ( $c$ ) is de "reactieconstante" van het glucosetransport van  $V_2$  naar  $V_3$ . Onder normale fysiologische omstandigheden is het glucosetransport de "rate limiting step" in de glucoseverwerking. De waarde is daarom relatief laag ten opzichte van de diffusieconstante ( $f$ ). De transportconstante ( $c$ ) bepaalt samen met de diffusieconstante ( $f$ ) en de snelheidsconstante ( $k$ ) de grootte en de verhoudingen van de glucoseconcentraties in de compartimenten ( $p$  en  $q$ ). De transportconstante ( $c$ ) van het even-

wicht tussen  $V_2$  en  $V_3$  wordt beïnvloed door insuline. Bij een verhoging van de insulineconcentratie neemt de waarde van  $c$  toe. Aangezien  $c$  niet constant blijft na verandering van de insulineconcentratie heeft ze als zodanig ook invloed op de veranderingen van de verhoudingen van de glucoseconcentraties ( $p$  en  $q$ ) die dan optreden. Bij een toeneming van  $c$  zal  $G_2$  dalen, daardoor zal ook  $G_1$  dalen en zal  $G_3$  stijgen (en deze concentraties bepalen de grootte van  $p$  en  $q$ ). In de nog volgende formules is te zien dat  $p$  en  $q$  niet beschreven kunnen worden zonder dat de transportconstante ( $c$ ) er in voorkomt.

## 7. DE SNELHEIDSCONSTANTE ( $k$ ).

De snelheidsconstante ( $k$ ) is de "reactieconstante" van de glucoseverwijdering in  $V_3$ . In een normale fysiologische situatie is de snelheidsconstante ( $k$ ) van de "rate limiting step" van het cellulaire glucosemetabolisme vele malen groter dan de transportconstante van  $V_2$  naar  $V_3$  ( $c$ ). Een voorbeeld waarbij het glucosetransport groter is dan de glucoseverwerking (zodat dit leidt tot een toegenomen vrije intracellulaire glucoseconcentratie) is de situatie in de erythrocyt. De snelheidsconstante ( $k$ ) bepaalt samen met de diffusieconstante ( $f$ ) en de transportconstante ( $c$ ) de verhoudingen van de glucoseconcentraties ( $p$  en  $q$ ) in de compartimenten.  $G_3$  is in normale omstandigheden in insulinegevoelige weefsels (zowel bij een hoge als bij een lage insulineconcentratie) zeer laag ten opzichte van de  $K_m$  van hexokinase. De snelheidsconstante ( $k$ ) is in die omstandigheden hoog ten opzichte van de diffusieconstante ( $f$ ) en relatief nog hoger dan de transportconstante ( $c$ ). De snelheidsconstante ( $k$ ) is onder normale omstandigheden onafhankelijk van acute veranderingen in de insulinetoevoer. Dat na langdurige verhoging van de insulineconcentratie op dit niveau een toegenomen glucoseverwerking plaats heeft is het gevolg van enzyminductie en niet van een insuline-effect op de snelheidsconstante ( $k$ ). Daarom heeft  $k$  theoretisch enige invloed op  $p$  en  $q$  doch praktisch is dit van geen belang tijdens de beperkte duur van een experiment. In de nog volgende formules is te zien dat  $p$  en  $q$  niet beschreven kunnen worden zonder dat de snelheidsconstante ( $k$ ) er in voorkomt.

## 8. DE VERHOUDING $G_2/G_1$ ( $p$ ).

In normale omstandigheden is het concentratieverschil tussen het intravasculaire en het extravasculaire compartiment zeer gering, zodat  $p$  bijna gelijk is aan 1 ( $G_1$  is vrijwel gelijk aan  $G_2$ ). Omdat de transportconstante van  $V_2$  naar  $V_3$  ( $c$ ) afhankelijk is van de insulinespiegel, neemt de verdwijningssnelheid van glucose uit  $V_2$  naar  $V_3$  bij verhoging van de insulineconcentratie sterk toe. Omdat de glucoseconcentratie in  $V_2$  ( $G_2$ ) hierdoor afneemt, neemt ook de glucoseconcentratie in  $V_1$  ( $G_1$ ) af. Bij verhoging van de insulineconcentratie neemt echter het verschil in glucoseconcentratie tussen  $V_1$  en  $V_2$  toe. Bij evenwicht met een hoge insulinespiegel met een toegenomen snelheidsconstante ( $c$ ) neemt  $p$  dus af. ( $G_2 = p \times G_1$ ).



## 9. DE VERHOUDING $G_3/G_1$ (q).

De celmembraan is limiterend bij het glucoseverbruik onder normale fysiologische omstandigheden (in insulinegevoelige cellen). Daarom is de glucoseconcentratie in  $V_3$  ( $G_3$ ) ~~zéér laag~~ ten opzichte van de glucoseconcentratie in  $V_1$  ( $G_1$ ). Het gevolg is dat de waarde van q zeer gering is (bijna nul). Omdat de transportconstante van  $V_2$  naar  $V_3$  (c) afhankelijk is van de insulinespiegel is q (verhouding  $G_3/G_1$ ) ook van de insulinespiegel afhankelijk. Als de transportconstante (c) onder invloed van insuline toeneemt, dan neemt het concentratieverschil tussen  $G_3$  en  $G_1$  af. Het gevolg is dat q toeneemt ( $G_3 = q \times G_1$ ).

## 10. VERANDERINGEN VAN TRANSPORT- (c) EN SNELHEIDSCONSTANTE (k).

De transportconstanten van  $V_2$  naar  $V_3$  (c) en de snelheidsconstante van het evenwicht in de cel tussen vrije glucose en glucose-6-fosfaat (k) zijn (zoals reeds opgemerkt) bij benadering constant. De onveranderlijkheid is uiteraard niet volledig omdat evenwichten bepaald worden door Michaelis-Menten kinetiek. Er kan wel van worden uitgegaan dat deze constanten bij benadering gelijk blijven, indien de concentratie van het substraat (glucose) ruim beneden de  $K_m$  van de reactie ligt. In dat geval experimenteert men in het steile (begin)deel van de Michaelis-Menten curve dat bij benadering recht is. Komt de glucoseconcentratie boven de  $K_m$ , dan buigt de curve sterk af en verandert de reactieconstante aanzienlijk. Daardoor is de reactiesnelheid dan niet meer bij benadering recht evenredig met de substraatconcentratie en het gevolg daarvan is een verandering van de reactieconstante. De  $K_m$  van het glucosetransport over de celmembraan is ongeveer 10 mmol/l en die van (spier)-hexokinase is kleiner dan 1 mmol/l<sup>147</sup>.

## 11. GLUCOSEFLUXEN.

Bij evenwicht geldt:

De glucoseinflux in  $V_1$  is:

$$P + DR + fG_2$$

De glucoseinflux in  $V_2$  is:

$$fG_1 + cG_3$$

De glucoseinflux in  $V_3$  is:

$$cG_2$$

De glucose-efflux uit  $V_1$  is:

$$fG_1$$

De glucose-efflux uit  $V_2$  is:

$$fG_2 + cG_2$$

De glucose-efflux uit  $V_3$  is:

$$cG_3 + kG_3$$

## 12. VERANDERINGEN IN DE COMPARTIMENTEN.

Na beschouwing van de glucosefluxen kunnen de absolute glucoseverplaatsingen in de compartimenten worden aangegeven:

$$V_1 \times dG_1/dt = P + DR + fG_2 - fG_1$$

$$V_2 \times dG_2/dt = fG_1 + cG_3 - fG_2 - cG_2$$

$$V_3 \times dG_3/dt = cG_2 - cG_3 - kG_3$$

## 13. VERPLAATSING TUSSEN DE COMPARTIMENTEN.

De absolute hoeveelheid verplaatste hoeveelheid glucose tussen elk van de compartimenten is:

$$V_1 \text{ naar } V_2 : fG_1 - fG_2 = fG_1 - fpG_1 = f(1-p) \times G_1$$

$$V_2 \text{ naar } V_3 : cG_2 - cG_3 = cpG_1 - cqG_1 = c(p-q) \times G_1$$

$$V_3 \text{ naar definitieve verwijdering} : kG_3 = kq \times G_1$$

Bij evenwicht tussen de compartimenten geldt dat deze hoeveelheden zowel gelijk zijn aan elkaar als aan de definitieve glucoseverwijdering:

$$f(1-p) \times G_1 = c(p-q) \times G_1 = kq \times G_1$$

zodat af te leiden is dat:

$$p = f(c+k) / f(c+k)+ck$$

$$q = fc / f(c+k)+ck$$

Het belang van deze afleiding van  $p$  (verh.  $G_2/G_1$ ) en  $q$  (verh.  $G_3/G_1$ ) is, dat nu inzichtelijk wordt dat de verhouding tussen de glucoseconcentraties in de compartimenten constant is en geheel wordt bepaald door de diffusie-, transport- en verdwijningsconstanten van het systeem. De constanten  $p$  en  $q$  zijn dus onafhankelijk van de glucoseconcentratie. Aan de formules van  $p$  en  $q$  is verder te zien dat  $p$  en  $q$  kleiner zijn dan 1 (zie het verschil tussen teller en noemer). Verder is te zien dat  $p$  groter is dan  $q$  ("meer" in de teller bij gelijke noemer). Daarom moet bij een evenwichtstoestand  $G_1$  dus groter zijn dan  $G_2$  en  $G_2$  groter dan  $G_3$ .

## 14. EVENWICHT.

In een evenwichtssituatie zijn de glucoseconcentraties van de diverse compartimenten verschillend, maar er is wel een constante verhouding tussen deze concentraties, zodat geldt:

$$G_2 = p \times G_1 \text{ en } G_3 = q \times G_1$$

Reeds bekend was dat:

$$\begin{aligned} V_1 \times dG_1/dt &= P + DR + fG_2 - fG_1 \\ V_2 \times dG_2/dt &= fG_1 + cG_3 - fG_2 - cG_2 \\ V_3 \times dG_3/dt &= cG_2 - cG_3 - kG_3 \end{aligned}$$

Door optelling van deze drie vergelijkingen en substitutie erin van p en q volgt:

$$(V_1 + pV_2 + qV_3) \times dG_1/dt = P + DR - (kq \times G_1)$$

Uit deze vergelijking blijkt dat:

$$V_{app.} = V_1 + pV_2 + qV_3$$

$V_{app.}$  is het "apparent volume": Het volume dat functioneel gezien het totaal is van alle compartimenten tezamen.  $V_{app.}$  is niet te bepalen in een evenwichtstoestand (waarbij  $dG/dt=0$ ). Er is een acute verandering in het evenwicht voor nodig.

Onder normale fysiologische omstandigheden geldt (zie eerder):

$$\begin{aligned} f \text{ en } k &\gg \gg c, \text{ waardoor } G_1 \text{ en } G_2 \gg \gg G_3, \text{ waarbij} \\ p &= (G_2/G_1) = \text{bijna } 1 \text{ en } q = (G_3/G_1) = \text{bijna } 0. \end{aligned}$$

zodat nu bij benadering geldt:

$$V_{app.} = V_1 + V_2$$

Bij een stabiele glucosespiegel ( $dG/dt=0$ ) met of zonder glucosetoevoer (DR) geldt:

$$0 = P + DR - (kq \times G_1)$$

$$G_1 = (P + DR) / kq \quad \text{of} \quad G_1 = P / kq$$

$$G_1 = (P + DR) \times (f \times (c+k) + ck) / (kfc)$$

De glucoseconcentratie in het eerste compartiment ( $G_1$ ) wordt dus volledig bepaald door glucoseproductie (P) en glucosetoevoer (DR) in combinatie met de eerder aangeduide constanten (f, c en k). Dit geldt analoog voor de glucoseconcentraties  $G_2$  en  $G_3$ .

## 15. NIET-EVENWICHT.

Indien bij een evenwicht (waarbij er sprake is van glucosetoevoer (DR) ) plotseling deze glucosetoevoer wordt onderbroken, ontstaat een niet-evenwicht. De glucoseconcentraties in de drie compartimenten zullen gaan dalen, waardoor na enige minuten een situatie ontstaat waarbij de verhoudingen tussen de drie concentraties opnieuw constant zijn. Deze verhoudingen zijn  $p_1$  en  $q_1$ , waarbij  $p_1$  en  $q_1$  iets groter zijn dan de oorspronkelijke waarden van  $p$  en  $q$ . Ook de waarden van  $p_1$  en  $q_1$  zijn volledig bepaald door  $f$ ,  $c$  en  $k$ . Vanaf dat moment geldt:

$$G_1 = (DR / kq_1) \times e^{-(kq_1) / (V_1 + p_1 V_2 + q_1 V_3) \times t} + P/kq_1$$

De verandering van  $G_1$  verloopt dan volgens een natuurlijk-logaritmische functie tot de asymptoot  $P/kq_1$ . De veranderingen van  $G_1$  worden (zoals is te zien) bepaald door  $k$ ,  $q_1$  en  $p_1$ . De andere factoren in de formule zijn constant. Net als bij de evenwichtssituatie geldt dan ook hier voor de niet-evenwichtssituatie dat  $G_1$  geheel wordt bepaald door de reactieconstanten, de glucosetoevoer(DR) en de glucoseproductie(P).

Extrapolatie naar  $t=0$  levert:

$$(dG_1/dt)_0 = (-DR) / (V_1 + p_1 V_2 + q_1 V_3)$$

Daaruit volgt:

$$V_{app.} = DR / -(dG_1/dt)_0 = V_1 + p_1 V_2 + q_1 V_3$$

De reactieconstanten zijn bepalend voor zowel de glucoseconcentraties als het verdeelingsvolume, omdat ze  $p_1$  en  $q_1$  bepalen.

## 16. HET POST-RECEPTORDEFECT.

Bij diabetes mellitus kan er sprake zijn van een post-receptordefect in het metabolisme van glucose (in insulinegevoelige weefsels). Deze afwijking kenmerkt zich door een reeds maximale glucoseverwerking bij insulinespiegels die bij gezonde personen nog niet tot een plateau (lees: maximale verwerkingssnelheid) leiden (in de dose-response-curve tussen insuline en glucoseverwerking). In ditzelfde insulinetraject is de receptor-bezetting en daardoor de glucosetransportcapaciteit echter nog wel veranderlijk. Als de transportcapaciteit groter wordt dan het maximale intracellulaire glucosemetabolisme, is in tegenstelling tot een normale toestand het glucosetransport niet meer limiterend bij de glucoseverwerking maar is het intracellulaire glucosemetabolisme het limiterende proces geworden. Indien dit leidt tot een substantiële verhoging van de intracellulaire glucoseconcentratie ( $G_3$ ) zal  $k$  niet meer bij benadering constant zijn maar naderen tot 0 (naarmate  $G_3$  groter wordt). De verwerking van glucose wordt niet meer bepaald door de heersende glucoseconcentraties (Michaelis-Menten kinetiek), maar is constant van snelheid geworden. Dit zou zich kunnen uiten als het onafhankelijk worden van de glu-

coseverwerking voor de heersende glucosespiegel. In deze situatie is  $k$  dus absoluut en relatief zeer laag, waardoor  $G_3$  relatief hoog is. Komt  $G_3$  daardoor ver boven de  $K_m$  van (spier)-hexokinase ( $\pm 1$  mmol/l), dan wordt de glucoseverwerking ( $kG_3$ ) constant ( $M$ , van maximaal). Weliswaar is deze glucoseverwerking ( $M$ ) maximaal maar ze zal veel kleiner zijn dan  $V_{max}$ , ten gevolge van productremming door glucose-6-phosfaat, van de hexokinasereactie. Doordat  $k$  dan zo klein is geworden hebben variaties in  $G_3$  geen essentiële invloed meer op het product  $kG_3$ : het blijft constant en maximaal ( $kG_3 = M$ ). De derde compartimentsvergelijking wordt dan wezenlijk anders:

$$V_3 \times dG_3/dt = cG_2 - cG_3 - M$$

## 17. EVENWICHT EN POST-RECEPTORDEFECT.

In een evenwichtssituatie met een post-receptordefect in de glucoseverwerking geldt de eerdere hoofdvergelijking:

$$V_1 \times dG_1/dt = P + DR + fG_2 - fG_1$$

maar omdat  $dG_1/dt = 0$  (evenwicht) geldt:

$$P + DR = fG_1 - fG_2 = cG_2 - cG_3 = kG_3 = kqG_1$$

Door substitutie van  $G_2$  door  $pG_1$  volgt:

$$G_1 = (P + DR) / (f \times (1-p))$$

Verder geldt nu:

$$P + DR = fG_1 - fG_2 = M = kqG_1$$

$$M = f \times G_1 \times (1-p)$$

zodat:

$$p = 1 - M / (fG_1)$$

$$q = 1 - (c+f) / (cf) \times M / G_1$$

Aan de formules van  $p$  en  $q$  is te zien dat deze nu **niet meer onafhankelijk** van een glucoseconcentratie beschreven kunnen worden. Er is dus een duidelijk verschil met de toestand zonder een post-receptordefect waarbij de formules van  $p$  en  $q$  te beschrijven waren zonder dat daarin de glucoseconcentratie voorkwam. De grootte van  $p$  en  $q$  is uiteraard wel constant bij een onveranderlijke glucosespiegel.  $G_1$  wordt ook beschreven in een formule waarin  $p$  voorkomt. Ook  $G_1$  is dus niet meer alleen een eenvoudige functie van de reactieconstanten.  $G_1$  kan elke gewenste evenwichtswaarde aannemen bij dezelfde waarden van  $M$ ,  $P$  en  $DR$  (zolang  $M = P + DR$ ). De glucoseconcentraties in

de compartimenten zullen zich na een wijziging van de evenwichtstoestand niet meer spontaan instellen op een manier die de verhoudingen tussen de concentraties ongewijzigd laat. De verhouding wordt nu dus mee bepaald door de uitgangssituatie.

Te zien is dat:

$$VdG_3/dt = cG_2 - cG_3 - M = 0 \quad \text{en} \quad VdG_3/dt = c(G_2 - G_3) - M = 0$$

$$(p-q) \times G_1 = M / c$$

Aangezien  $M/c$  constant is, betekent dit dat, indien  $G_1$  verandert, ook  $p$  en  $q$  moeten veranderen. Dit is in contrast met de situatie zonder post-receptordefect waarbij  $p$  en  $q$  niet veranderden na wijziging van de glucoseconcentraties. In die situatie werden  $p$  en  $q$  alleen bepaald door de reactieconstanten  $f$ ,  $c$  en  $k$ . Ook is te zien dat nu bij veranderingen in het evenwicht het verschil tussen  $G_2$  en  $G_3$  constant is terwijl zonder een post-receptordefect juist de verhouding tussen  $G_2$  en  $G_3$  constant was. Hetzelfde geldt voor de relatie tussen  $G_1$  en  $G_2$ . Doordat  $G_3$  in deze situatie een niet meer te verwaarlozen grootte heeft is dus ook  $q$  (verh.  $G_3/G_1$ ) niet meer verwaarloosbaar. Dit heeft consequenties voor de grootte van het verdelingsvolume want:

$$V_{app.} = V_1 + pV_2 + qV_3$$

De term  $qV_3$  die tevoren werd genegeerd moet nu wel degelijk meegeteld worden. Dit betekent dat  $V_{app.}$  in de situatie met een post-receptordefect proportioneel aanmerkelijk groter zal zijn dan in normale situatie. De hoogte van de glucosespiegel tijdens evenwicht is dus onafhankelijk van de maximale glucoseverwerking ( $M$ ). Eén en ander betekent dat wanneer  $P + DR$  tezamen groter zijn dan  $M$ , de glucosespiegel lineair blijft stijgen (totdat er eventueel door renaal glucoseverlies alsnog een nieuwe evenwichtssituatie optreedt). Evenzo zal de glucosespiegel lineair dalen indien  $P + DR$  kleiner zijn dan  $M$  (totdat contraregulatie optreedt of totdat  $G_3$  beneden de  $K_m$  van hexokinase komt).

## 18. NIET-EVENWICHT EN POST-RECEPTORDEFECT.

Bij het manifeste post-receptordefect is het verschil tussen  $G_1$  en  $G_2$  en tussen  $G_2$  en  $G_3$  constant. Na het onderbreken van de evenwichtstoestand door staken van de glucose-toevoer dalen  $G_1$ ,  $G_2$  en  $G_3$  in de eerste minuten dusdanig dat daarna de verschillen ( $G_1-G_2$ ) en ( $G_2-G_3$ ) opnieuw een constante verhouding aannemen. Deze verschillen worden opnieuw bepaald door  $M$ ,  $f$  en  $c$ . Bij deze nieuwe situatie behoren nieuwe waarden van  $p_1$  en  $q_1$ . Vanaf dat moment geldt:

$$(V_1 + p_1V_2 + q_1V_3) \times (dG_1/dt) = P + DR - M$$

Bij evenwicht gold:  $DR = M - P$  zodat:

$$d(G_1)_0/dt = -DR / (V_1 + p_1 V_2 + q_1 V_3)$$

door integratie volgt hieruit:

$$G_1 = X - \{DR / (V_1 + p_1 V_2 + q_1 V_3)\} \times t$$

waarbij  $X$  een constante is (gelijk aan  $G_1$  na extrapolatie naar  $t=0$ ).

We zien dat de glucosedaling nu niet exponentieel is, maar lineair, omdat in tegenstelling tot de normale situatie  $G_1$  uit de vergelijking is verdwenen.

Op  $t=0$  is de constante ( $X$ ) te vinden:

$$G_1 = X = (P + DR) / (f \times (1-p_1))$$

$$G_1 = (P + DR) / (f \times (1-p_1)) - DR / (V_1 + p_1 V_2 + q_1 V_3) \times t$$

Het verdelingsvolume is in deze situatie:

$$V_{app.} = DR / -(dG_1)_0/dt = V_1 + p_1 V_2 + q_1 V_3$$

In dit geval is wederom het verschil met de toestand waarin geen post-receptordefect aanwezig is dat  $q_1$  (de verhouding tussen  $G_3$  en  $G_1$ ) niet meer verwaarloosbaar klein is, omdat er nu een niet te verwaarlozen " $G_3$ -spiegel" is.

## 19. GETALLEN VOORBEELD (zie ook tabel 6.1. en fig. 6.2.).

1. We gaan uit van de volgende uitgangssituatie met een post-receptordefect ( $k \times G_3 = M$ ):

$$f = 10 \times 100 \text{ ml/min/m}^2 \text{ (Getallen gebaseerd op model van Ferrannini<sup>35</sup>)}$$

$$c = 2,5 \times 100 \text{ ml/min/m}^2$$

$$V_1 = 30 \times 100 \text{ ml/m}^2$$

$$V_2 = 35 \times 100 \text{ ml/m}^2$$

$$V_3 = 165 \times 100 \text{ ml/m}^2$$

$$G_1 = 150 \text{ mg/dl (na extrapolatie)}$$

$$DR = 75 \text{ mg/min/m}^2$$

$$M = 150 \text{ mg/min/m}^2$$

Dan is na invulling van de voorgaande formules:

$$p_1 = 0,9$$

$$q_1 = 0,5 \text{ (zeer hoog)}$$

$$k = 2,0 \text{ (zeer laag)}$$

$$G_2 = 135 \text{ mg/dl (na extrapolatie)}$$

$$G_3 = 75 \text{ mg/dl (na extrapolatie)(hoog)}$$



De "pools" van de compartimenten worden dan:

$$\begin{aligned}P_1 &= 4500 \text{ mg/m}^2 \\P_2 &= 4725 \text{ mg/m}^2 \\P_3 &= 12375 \text{ mg/m}^2 \text{ (zeer hoog)} \\P_{\text{tot.}} &= 21600 \text{ mg/m}^2\end{aligned}$$

De rest van de variabelen is dan:

$$\begin{aligned}P &= 75 \text{ mg/min/m}^2 \\V_{\text{app.}} &= 144 \times 100 \text{ ml/m}^2 \text{ (zeer hoog)} \\-(dG/dt_0) &= 0,52 \text{ mg/dl/min}\end{aligned}$$

Uit de berekening volgt dat in een situatie met een post-receptordefect het verdeelvolumen opvallend hoog is. Verder is  $q_1$  relatief hoog en dat geldt ook voor  $G_3$  en zeker voor  $P_3$ .

2. Indien de berekening nu wordt gemaakt met getallen die passen bij een normale situatie (zonder post-receptordefect) ( $k = 20$ ) én dezelfde leverglucoseproductie ( $P = 75 \text{ mg/min/m}^2$ ) dan verandert het evenwicht:

$$\begin{aligned}p_1 &= 0,82 & G_2 &= 123 \text{ mg/dl} \\q_1 &= 0,091 & G_3 &= 13,7 \text{ mg/dl (veel lager)}\end{aligned}$$

De "pools" van de diverse compartimenten worden dan:

$$\begin{aligned}P_1 &= 4500 \text{ mg/m}^2 \\P_2 &= 4305 \text{ mg/m}^2 \\P_3 &= 2252 \text{ mg/m}^2 \\P_{\text{tot.}} &= 11057 \text{ mg/m}^2\end{aligned}$$

De rest van de variabelen is dan:

$$\begin{aligned}\text{DR} &= 198 \text{ mg/min/m}^2 \\V_{\text{app}} &= 73,7 \times 100 \text{ ml/m}^2 \\ \text{Metab.} &= 273 \text{ mg/min/m}^2 \\-(dG/dt_0) &= 2,69 \text{ mg/dl/min}\end{aligned}$$

Het verdeelvolumen ( $V_{\text{app.}}$ ) is nu lager geworden,  $q_1$  is veel lager geworden. Ook  $P_3$  is weer veel lager geworden.

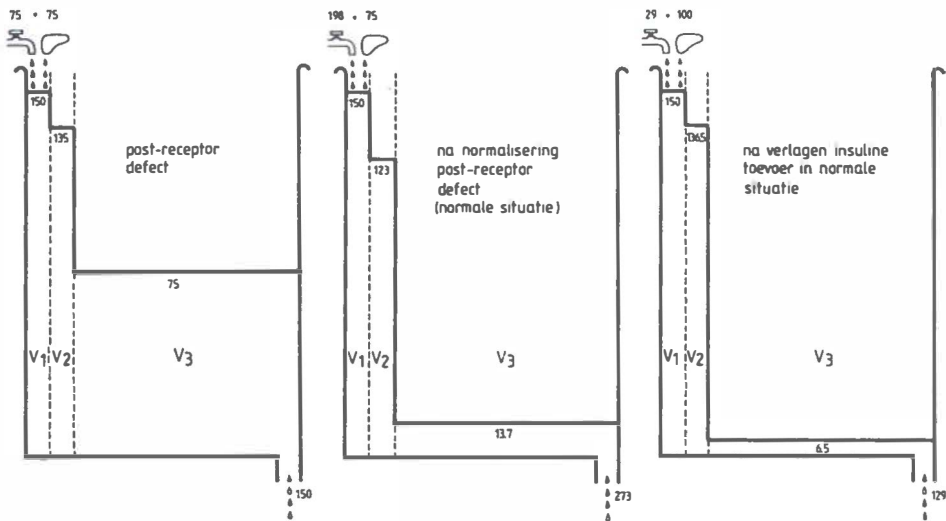
3. Wijziging van de insulineconcentratie zal invloed hebben op  $c$ . Om na te gaan wat de gevolgen zijn van een wisselende insulinespiegel op  $c$  veranderen we  $c$  van 2,5 (het vorige voorbeeld) naar 1,0. Deze verandering simuleert (dus) een lagere insulinespiegel. Stel dat de glucoseproductie door de lever hierdoor toeneemt tot  $P = 100 \text{ mg/min/m}^2$ , dan volgt:

$$\begin{aligned} p_1 &= 0,91 & G_2 &= 136,5 \text{ mg/dl} \\ q_1 &= 0,043 & G_3 &= 6,45 \text{ mg/dl} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{DR} &= 29 \text{ mg/min/m}^2 \\ V_{\text{app.}} &= 68,95 \times 100 \text{ ml/m}^2 \\ \text{Metab} &= 129 \text{ mg/min/m}^2 \\ -(dG/dt_0) &= 0,42 \end{aligned}$$

Uit het voorbeeld blijkt dat de wijziging in het volume ( $V_{\text{app.}}$ ), die daardoor optreedt, relatief gering is (van 73,7 naar  $68,95 \times 100 \text{ ml/m}^2$ ) in vergelijking met de volumewijziging die plaats heeft bij de overgang van een normale toestand naar een toestand met een post-receptordefect (73,7 naar  $144 \times 100 \text{ ml/m}^2$ ).

Wanneer er geen post-receptordefect is, is het glucoseverdelingsvolume dus vrijwel onafhankelijk van de insuline- en van de glucoseconcentratie. Indien er wel een manifest post-receptordefect is, dan wordt het glucoseverdelingsvolume sterk afhankelijk van de hoogte van de evenwichtsglucosepiegel  $G_1$  (omdat  $p$  en  $q$  sterk afhangen van  $G_1$ ), en bovendien afhankelijk van de insulinespiegel (omdat  $q$  bovendien afhangt van  $c$ ). In een dergelijke toestand kan bij lage insulinespiegel het post-receptordefect niet manifest zijn, waardoor dan  $V_{\text{app.}}$  normaal is. Bij hogere insulinespiegels kan het defect manifest worden, waarbij dan  $V_{\text{app.}}$  sterk stijgt en bovendien varieert met de gekozen evenwichtswaarde van  $G_1$ .



**Figuur 6.2.:** De drie situaties uit het in de tekst beschreven getallen voorbeeld van het glucose-metabolisme. Links de situatie met een post-receptordefect, midden de normale situatie, en rechts verlaging van de insulineconcentratie. De symbolen worden in de tekst verklaard.

**TABEL 6.1:** Essentiële variabelen van het glucosemetabolisme. De getallen zijn als voorbeeld berekend met behulp van het in dit hoofdstuk uitgewerkte model van glucoseverwerking. Zie voor een verklaring van de symbolen de lijst van afkortingen aan het begin van dit hoofdstuk.

SYMBOOL	POST-REC.DEFECT	NORMAAL	INS. DALING
f	10.0	10.0	10.0
c	2.5	2.5	1.0
k	2.0	20.0	20.0
p	0.9	0.82	0.91
q	0.5	0.091	0.043
G <sub>1</sub>	150	150	150
G <sub>2</sub>	135	123	136.5
G <sub>3</sub>	75	13.7	6.45
V <sub>1</sub>	30	30	30
V <sub>2</sub>	35	35	35
V <sub>3</sub>	165	165	165
V <sub>app.</sub>	144	73.7	69
PL <sub>1</sub>	4500	4500	4500
PL <sub>2</sub>	4725	4305	4776
PL <sub>3</sub>	12375	2252	1064
PL <sub>T</sub>	21600	11057	10340
DR	75	198	29
P	75	75	100
METAB.	150	273	129
dG/dt	-0.52	-2.69	-0.42



## Hoofdstuk 7.

### PROEFOPSTELLING.

Dit hoofdstuk is ingedeeld in:

1. Patiënten.
2. Voorbereiding.
3. Proef.
4. Bloedafname.
5. Biostator.

#### 1. PATIËNTEN.

##### *TOELATINGSCRITERIUM.*

In het onderzoek werden 37 experimenten verricht bij 35 patiënten. Het toelatingscriterium was type I diabetes mellitus. De diagnose was in alle gevallen gesteld op grond van een klassieke ziektegeschiedenis, waaronder wordt verstaan een (sub-) acuut begin van de ziekte en/of een aangetoonde manifeste ketoacidose.

##### *UITSLUITINGSCRITERIA.*

Er werden geen patiënten onderzocht met andere ziekten dan diabetes mellitus. De kreatinine-kларing moest minimaal 50 ml/min zijn zodat grote verschillen in insulineklarings konden worden uitgesloten. Gezien het eventuele risico van hypoglycemie voor de retinafunctie werden geen patiënten onderzocht met een proliferatieve retinopathie. De maximale leeftijd voor toelating was 60 jaar, zodat belangrijke verschillen in het insuline- en glucosemetabolisme, die het gevolg zijn van ouderdom, werden vermeden. (Klinisch) manifeste neuropathie was geen reden voor uitsluiting.

##### *TOESTEMMING.*

Alle patiënten werden voorafgaand aan het onderzoek ingelicht omtrent de procedure en de eventuele risico's. Het onderzoek werd door de medisch-ethische commissie van het ziekenhuis (Academisch Ziekenhuis Groningen) goedgekeurd.

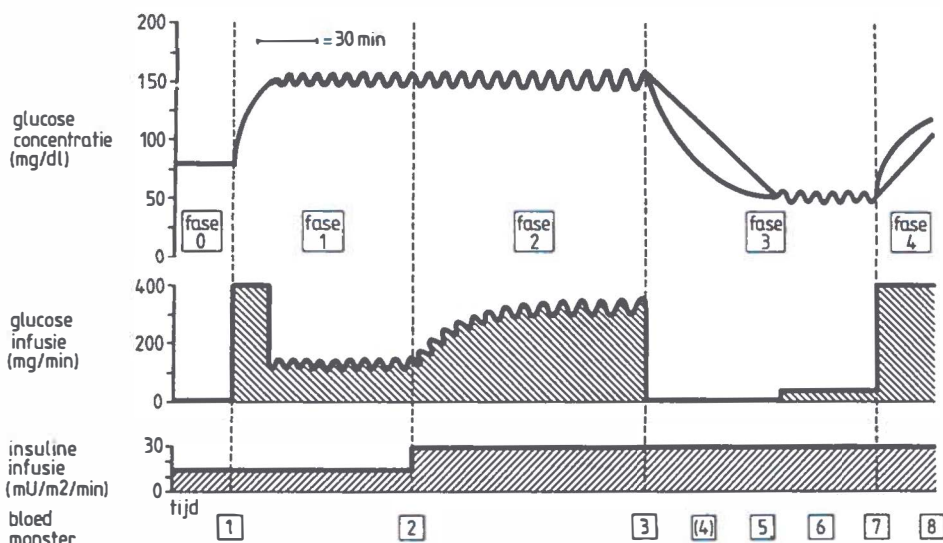
#### 2. VOORBEREIDING.

Alle patiënten waren ingesteld op een individueel aangepast insulineregime dat, evenals het dieet, tenminste 3 weken voor het onderzoek niet meer essentieel was gewijzigd. Uiterlijk 48 uur voor het begin van het onderzoek werd de laatste injectie van een middellang- of langwerkend insulinepreparaat toegediend. Vanaf dat moment werd door middel van bloedglucosebepalingen met teststrips (thuis) de glucosespiegel alleen nog gereguleerd met behulp van kortwerkende insuline. Zonodig vond telefonisch overleg plaats.

De dag voorafgaande aan het onderzoek werden de patiënten om 12 uur opgenomen in de kliniek. Zij werden gestimuleerd zoveel mogelijk hun normale bewegingspatroon

te continueren. Het gebruikelijke voedingsschema werd aangehouden. Vanaf 12 uur (voormiddag) werd ook het subcutaan spuiten van kortwerkende insuline gestaakt en werd overgegaan op intraveneus toedienen van insuline met behulp van een infusie-pomp. Op geleide van bloedglucosebepalingen (glucoseoxidasemethode) om de twee uur werd de insulinetoevoer zonodig bijgesteld. Er werd gestreefd naar glucosespiegels van 80-180 mg/dl. De laatste maaltijd werd uiterlijk om 21 uur gebruikt. Na 24.00 uur 's nachts werd gestreefd naar een geleidelijke daling van de glucosespiegel naar 80 mg/dl. Het doel was om dit niveau minstens één uur voor de aanvang van het experiment te hebben bereikt. Uiterlijk twee uur voor de start van het experiment werd de laatste wijziging aangebracht in de dosering van de intraveneuze insuline, zodat bij alle patiënten een stabiel insuline-effect werd bereikt bij de definitieve aanvang van de proef.

### 3. PROEF (zie fig. 7.1.).



**Figuur 7.1.:** De proefopstelling.

#### **START VAN HET EXPERIMENT.**

De proef werd uitgevoerd met de patiënt in liggende of half zittende houding. Er werd gestart om 7.30 uur. Minstens 45 minuten voor het begin van de registraties werden nog twee extra infusen ingebracht voor aansluiting aan de Biostat (glucosemeting) en voor bloedafname (door middel van een kraantje). Reeds aanwezig was het daags tevoren aangelegde infuus voor de insulinetoevoer. Het totaal aantal infusen werd dus drie. De infusen werden gelocaliseerd op de onderarmen van de patiënt. Uiteraard was het infuus dat bestemd was voor bloedafname aangelegd op de andere arm dan die waar in-

fusie van glucose en insuline plaats vond. De cathetertip was centripetaal gericht. Er werd veneus (niet geïnterarterialiseerd) bloed afgenomen. Bij een dreigende beperking van de bloedflow door bijvoorbeeld koude handen werd de lokale warmte van een lamp gebruikt (om dit probleem op te heffen). Er werd gevast, roken was niet toegestaan. D-glucose werd gegeven als een 20% (g/v) oplossing. De gebruikte insuline was kortwerkende en werd opgelost in fysiologisch zout zonder toevoegingen zoals albumine of dextranen. De insuline werd geïnfundeerd door middel van een Ivac<sup>R</sup>-infusiepomp met een flowsnelheid van minstens 10 ml/uur (veelal 20-60 ml/uur). Het insuline-infusiesysteem van de Biostator werd niet gebruikt.

## **FASEN VAN HET EXPERIMENT** (zie fig. 7.1.).

### **FASE 0.**

Dit is de situatie zoals die bestond aan het einde van de nacht, dat wil zeggen een streef-glucoseniveau van 80 mg/dl, bij een individueel aangepaste insulinetoevoer (die proefondervindelijk was vastgesteld om deze gewenste glucosespiegel te bereiken). Deze individueel aangepaste insulinetoevoer was minstens 2 uur voor het begin van fase 0 ingesteld en daarna niet meer gewijzigd. In deze fase was de loopsnelheid van de insuliepomp 10 ml/uur of meer, waardoor belangrijke verstoring van de insulinetoevoer als gevolg van aggregatie en/of adhesie aan het slangensysteem werd voorkomen. De relevante Biostatorconstanten waren als volgt: FD = 400-420, RD = 20, QD = 5, BD = 10. Mode 7:1. De insulineconstanten werden niet gebruikt. Aan het einde van deze 20-30 minuten durende fase werd bloed afgenomen (punt 1) (zie later).

### **FASE 1.**

Na de bloedafname aan het einde van fase 0 werd door het wijzigen van de Biostatorconstanten bewerkstelligd dat het glucoseniveau door middel van glucoseinfusie werd verhoogd naar 150 mg/dl. Dit geschiedde met een infusiesnelheid van 400-420 mg/min. Meestal werd dit glucoseplateau bereikt in ongeveer 20 minuten. Daarna werd het gehandhaafd gedurende 90 minuten. In deze tijd bleef de insulinetoevoer onveranderd, dus gelijk aan die welke ook reeds in fase 0 werd gegeven. De benodigde glucosetoevoer om dit plateau te handhaven was nog steeds individueel verschillend, dat wil zeggen niet alleen op grond van verschillende insulinegevoeligheid, maar ook omdat de insulinetoevoer per persoon per m<sup>2</sup> (nog) ongelijk was. De relevante Biostatorconstanten waren als volgt: FD = 400- 420, RD = 20, QD = 5, BD = 150. Mode 7:1. De insulineconstanten werden niet gebruikt. Aan het einde van deze 90 minuten durende fase werd bloed afgenomen (punt 2) (zie later).

### **FASE 2.**

Na het beëindigen van fase 1 werd in fase 2 de insulinetoevoer zonder "priming dose" verhoogd naar een vaste snelheid van 30 mE/m<sup>2</sup>/min. Deze insulinetoevoer resulteerde in een minimale infusiesnelheid van 10 ml/uur (oplossing van insuline in fysiologisch zout: 25 E in 500 ml). Door wijziging van de constanten van de Biostator (zie hieronder) werd bereikt dat via een "fellere" glucoseafgifte het glucoseplateau van 150 mg/100 ml werd gehandhaafd. De relevante Biostatorconstanten waren als volgt: FD = 400-420, RD = 60, QD = 5, BD = 150. Mode 7:1. De insulineconstanten werden



niet gebruikt. Aan het einde van deze 120 minuten durende fase werd bloed afgenomen (punt 3) (zie later).

### **FASE 3 EN FASE 3S.**

Na het beëindigen van fase 2 werd de glucoseinfusie abrupt gestopt, terwijl geen wijziging werd aangebracht in de insulinetoevoer van 30 mE/m<sup>2</sup>/min. Het gevolg hiervan was een daling van de glucosespiegel (fase 3). Het doel waarnaar gestreefd werd was het bereiken van een hypoglycemisch plateau van 50 mg/100 ml (fase 3s; de s is van stabiel). Er waren dan drie mogelijkheden:

1. Door een vroegtijdig en/of sterk vermogen tot contrareguleren van de patiënt werd het beoogde glucoseplateau in het geheel niet bereikt.

2. Het beoogde plateau werd bij benadering bereikt en gehandhaafd door contraregulatie van de patiënt, zonder dat er sprake was van glucosetoevoer van buitenaf.

3. Het plateau (fase 3s) werd bereikt doch de dalende lijn van de glucosespiegel toonde geen tendens naar stabilisering. In zo'n geval werd door wijziging van de Biostatorconstanten een glucoseinfusie gegeven die juist voldoende was om het gewenste plateau te handhaven. Hierdoor werd voorkomen dat de hypoglycemische prikkel van een onaanvaardbare sterkte zou zijn. Tevens werd hiermee standaardisatie bewerkstelligd. De relevante Biostatorconstanten waren als volgt: FD = 400-420, RD = 20, QD = 5, BD = 50. Mode 7:1. De insulineconstanten werden niet gebruikt. Gedurende deze 90 -120 minuten durende fase werd elke 30 minuten bloed afgenomen (punt (4),5,6 en 7). De reden dat fase 3 niet voor alle patiënten een gelijke duur had was het gevolg van verschillen in de snelheid van glucosedaling zodat er ook aanzienlijke verschillen waren in de tijd die nodig was om het plateau te bereiken. Er werd naar gestreefd om het hypoglycemische plateau (50 mg/dl) minimaal 20 minuten te handhaven. Dit gelukte niet altijd.

### **FASE 4.**

Na de bloedafname aan het einde van fase 3 werden de constanten van de Biostator zo gewijzigd dat de glucoseinfusie maximaal werd, dat wil zeggen 400-420 mg/min. De bestaande insulinetoevoer van 30 mE/m<sup>2</sup>/min werd gecontinueerd. De relevante Biostatorconstanten waren als volgt: FD = 400-420, RD = 60, QD = 5, BD = 150. Mode 7:1. De insulineconstanten werden niet gebruikt. Aan het einde van deze 30 minuten durende fase werd bloed afgenomen (punt 8) (zie later).

## **4. BLOEDAFNAME.**

### **TIJDEN.**

Er werd bloed afgenomen aan het einde van fase 0 (punt 1), aan het einde van fase 1 (punt 2), aan het einde van fase 2 (punt 3), elke 30 minuten gedurende fase 3 tot 90 of 120 minuten na het starten hiervan (punt (4),5,6,7) en aan het einde van fase 4 (punt 8). Één en ander resulteerde in 7 (fase 3: 90 min) of 8 (fase 3:120 min) "prikpunten". Pijn bij de bloedafname werd voorkomen. Direct na het afnemen (of stollen) werd er gecentrifugeerd en werd het serum of plasma ingevroren bij -30°C.

### **GLUCOSE.**

Glucose werd bepaald als referentie voor de Biostator met behulp van de ferricyanide methode. De bepaling geschiedde in vol bloed en werd in duplo uitgevoerd. Verder werd de glucosespiegel continu gemeten met behulp van de Biostator (glucoseoxidase-methode). Incidenteel optredende fouten in de meting van de Biostator werden gecorrigeerd (zie later) met de laboratoriumbepaling zoals hier beschreven.

### **INSULINE.**

Vrije insuline ("immuno-reactive insulin") werd na poly-ethyleenglycol precipitatie in serum bepaald volgens een double antibody radio-immunoassay<sup>552,553</sup> (RD10 antiserum, Wellcome).

### **C-PEPTIDE.**

C-peptide werd in serum bepaald met een radio-immunoassay<sup>554</sup> (M1221 antiserum, Novo).

### **GLUCAGON.**

Glucagon werd in plasma bepaald met een gemodificeerde<sup>555</sup> (extractie) radio-immunoassay<sup>556,557</sup> (antilichaam K 5563, Novo). Direct na de bloedafname was 3 ml bloed toegevoegd aan een 0,1 ml oplossing van aprotinine (10 mg/ml) in water.

### **GROEIHORMOON.**

Groeihormoon werd in serum bepaald met een double antibody radio-immunoassay op niet geëxtraheerd serum (anti hGH monoclonaal antilichaam RD52, Dac-Cel\* hGH-MCA, Wellcome).

### **CORTISOL.**

Cortisol werd in serum bepaald volgens een directe radio-immunoassay<sup>558</sup> op niet geëxtraheerd serum met behulp van antiserum tegen cortisol-21-acetaat-3-O-carboxymethylxime.

### **ADRENALINE EN NORADRENALINE.**

Beide catecholaminen werden in plasma bepaald met behulp van "high-performance liquid chromatography" met elektrochemische detectie<sup>559</sup>.

### **VRIJE VETZUREN.**

Vrije vetzuren werden spectrofotometrisch bepaald<sup>560</sup>.

## **5. BIOSTATOR.**

### **BESCHRIJVING.**

De Biostator is een apparaat dat in essentie bestaat uit de combinatie van een computer en twee rollenpompen. De rollenpompen zorgen voor voortstuwing en/of aanzuiging van de inhoud van infuusverbindingen met de patiënt. De ene verbinding is een infuus waarmee continu een kleine hoeveelheid bloed aan de veneuze circulatie wordt onttrok-

ken. In dit bloed wordt permanent het glucosegehalte gemeten. De gemeten glucose-spiegels worden door een computer "geïnterpreteerd" en vervolgens wordt afhankelijk van een instelbaar (dus modificeerbaar) algoritme de noodzakelijke glucose- of insulineafgifte van de Biostator berekend. De andere verbinding is dan een infuus waarmee, indien noodzakelijk, op grond van de uitkomst van het algoritme de berekende hoeveelheid glucose en/of insuline kan worden toegediend. Er is dan sprake van een gesloten systeem ("closed loop"): "patiënt-infuus-glucosemeting-berekening-afgifte van glucose of insuline-infuus-patiënt".

#### ***DUBBELLUMENCATHETER.***

Een oplossing van 5000 IE Na-heparine in 100 ml NaCl 0,9% wordt via het ene kanaal van een catheter met een dubbel lumen gestuwd naar de basis van een intraveneus gelegen infuuscanule. De oplossing loopt door het lumen van de infuuscanule naar het einde ervan. Aldaar vindt menging plaats met bloed, waarna zonder dat het mengsel in circulatie kan komen, ogenblikkelijk aanzuiging plaats vindt aan het distale einde van het andere kanaal (tevens bijna aan het einde van de infuuscanule gelegen). Het bloed, nu in een vaste verhouding gemengd met NaCl en heparine, wordt naar de Biostator gezogen.

#### ***MENGING.***

Het mengsel wordt verder verdund met een isotone bufferoplossing waaraan conserveermiddel is toegevoegd. Door aanzuiging van luchtbelletjes in een vertragingsslus wordt de menging volledig. Na passage van een ontluchter waarin de luchtbelletjes door opstijgen uit de oplossing verdwijnen gaat de vloeistof naar de glucosesensor.

#### ***GLUCOSESENSOR.***

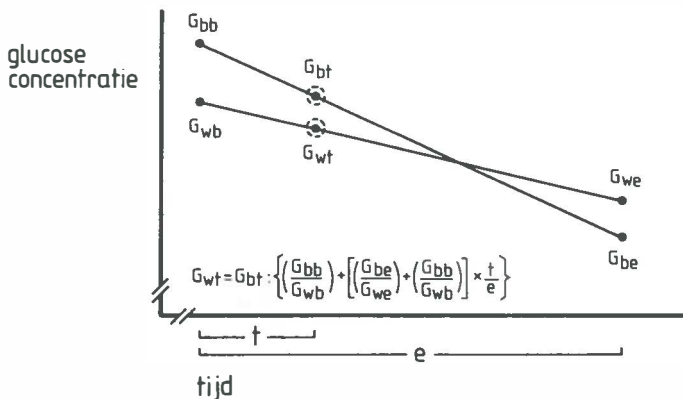
De glucosesensor bestaat uit een cellofaan dubbelmembraan, waartussen zich het (uit een aspergillussoort verkregen) enzym glucose-oxidase bevindt. Aan de ene zijde van de membraan passeert gebufferd en onstolbaar (gemaakt) bloed, aan de andere zijde zijn een onder spanning staande platina kathode en anode er tegenaan geplaatst. Door oxidatie van de door de membraan diffunderende glucose ontstaan onder andere  $H^+$  en  $OH^-$  die, door aantrekking naar voornoemde elektrische polen, de veroorzakers zijn van het ontstaan van een geringe stroom. De sterkte van deze stroom is een maat voor de hoogte van de glucosespiegel in het bloed. De meting heeft plaats in vol bloed. Het gemeten bloed wordt afgevoerd naar een verzamelreservoir. Per etmaal is het bloedverlies slechts enkele milliliters. Een probleem dat inherent is aan elke sensor van dit type is het "verloop". Gedurende de bedrijfstijd kan aanvankelijk, bij dezelfde glucoseconcentratie, de stroomafgifte nog toenemen waardoor er een bedrieglijke toeneming van de gemeten glucoseconcentratie ontstaat. Bij langere bedrijfstijd kan het omgekeerde optreden, te weten een afname van de stroomsterkte, met als gevolg een lagere glucosemeting dan reëel is. Door regelmatige ijking van de sensor kan dit probleem in theorie worden opgelost doch in de praktijk blijkt zo'n ijkingprocedure teveel tijd in beslag te nemen. Het gevolg ervan zou zijn dat er lange tijd geen glucoseregistratie voorhanden is met als gevolg dat het gewenste glucoseniveau niet zou worden gehandhaafd. In de ijktyd wordt namelijk de glucoseafgifte (op geleide van het algoritme) stopgezet. Een methode om dit probleem op te lossen zal hierna worden besproken.

### CORRECTIE VAN HET SENSOR VERLOOP.

Gedurende het experiment werd minstens elke 30 minuten een "laboratorium-glucose-spiegel" bepaald. Indien er afwijkingen optraden in de door de Biostator aangegeven waarde werd géén ijkprocedure uitgevoerd, maar werd zonodig alleen de waarde van BD gewijzigd (zie de bespreking van de Biostatorconstanten). Het voordeel hiervan werd eerder reeds uiteengezet. Zo kon soms de situatie ontstaan dat de patiënt de juiste glucosespiegel had (laboratoriumbepaling) terwijl de Biostator-glucosewaarden buiten de bedoelde range lagen. Na afloop van het experiment konden dan alle Biostator-waarden worden omgerekend tot laboratorium-waarden met behulp van de volgende formule (zie fig. 7.2.):

$$G_{wt} = G_{bt} : \left\{ \frac{G_{b0}}{G_{w0}} + \left[ \frac{G_{be}}{G_{we}} - \frac{G_{b0}}{G_{w0}} \right] \times \frac{t}{e} \right\}$$

waarbij:  $G_{wt}$  = de ware (laboratorium) glucosespiegel op tijdstip  $t$ ,  $G_{bt}$  = de Biostator-glucosespiegel op tijdstip  $t$ ,  $G_{w0}$  = de ware (laboratorium) glucose op tijdstip 0,  $G_{b0}$  = de Biostatorglucosespiegel op tijdstip 0,  $G_{be}$  = de Biostatorglucosespiegel aan het einde van de waarnemingstijd,  $G_{we}$  = de ware (laboratorium) glucosespiegel aan het einde,  $t$  = de waarnemingstijd op tijdstip  $t$  en  $e$  = de totale waarnemingstijd.



**Figuur 7.2.:** Correctie van (eventueel) sensorverloop.  $G_{wt}$  = de ware glucosespiegel op  $t=t$ ,  $G_{bt}$  = de Biostatorglucose op  $t=t$ ,  $G_{b0}$  = de Biostatorglucose aan het begin,  $G_{wb}$  = de ware glucose aan het begin,  $G_{be}$  = de Biostatorglucose aan het eind,  $G_{we}$  = de ware glucose aan het eind,  $t$  = een willekeurige waarnemingstijd,  $e$  = de totale waarnemingstijd.

### COMPUTER.

De chip van de computer bevat een programma dat in staat is de gemeten stroomsterkte als bloedglucosespiegel te interpreteren (nadat ijking met behulp van vloeistoffen van bekende glucoseconcentraties heeft plaatsgevonden). De reactie hierop kan bestaan uit de afgifte van insuline, glucose of alleen NaCl 0,9%. De NaCl infusie is alleen bedoeld om verstoppingen van de slangen te voorkomen, als er tijdelijk geen glucose- of insuli-

neinfusie plaats heeft. Het gedeelte van de Biostator waarin dit alles plaats vindt heet de "analyser module".

Er zijn diverse reactiepatronen mogelijk:

### REACTIEPATRONEN (1).

Afhankelijk van de ingestelde "mode" kan zowel de glucose als de insuline worden afgegeven op een vaste, een statische of een dynamische manier.

1. **VASTE MANIER.** De glucose of insuline wordt afgegeven met een vaste snelheid die niet wordt beïnvloed door de gemeten glucoseconcentratie.

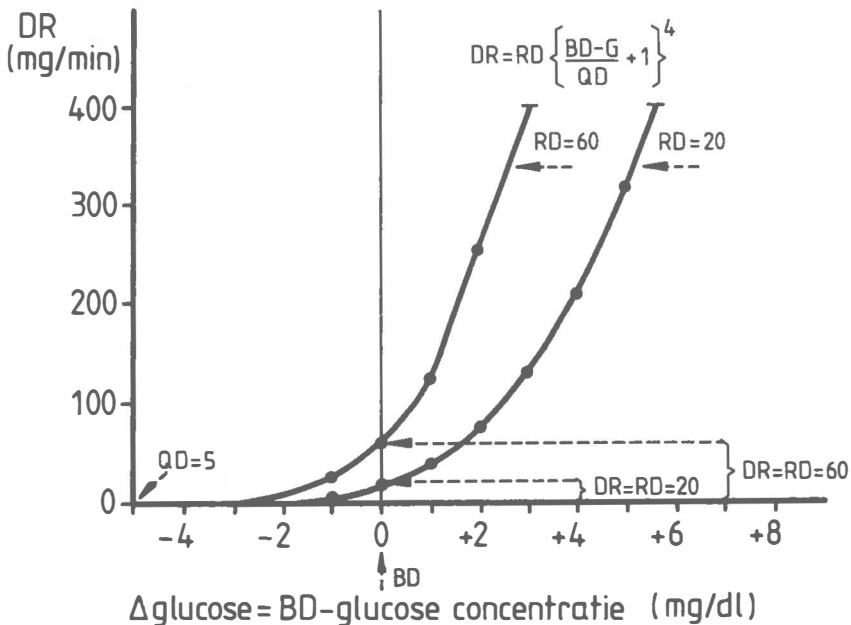
2. **DYNAMISCHE MANIER.** De glucose of insuline wordt afgegeven op een manier die wordt bepaald door de snelheid waarmee de gemeten glucoseconcentratie verandert in de tijd.

3. **STATISCHE MANIER.** De glucose of insuline wordt afgegeven op een manier die wordt bepaald door de absolute hoogte van de gemeten glucoseconcentratie. In het onderzoek werd "geclampt" met behulp van deze "mode" (7:1).

### REACTIEPATRONEN (2).

In het onderzoek werd alleen de glucose-infusiemodule van de Biostator gebruikt. Ook werd alleen gebruik gemaakt van de statische controle (mode 7:1). Het algoritme volgens hetwelk in dat geval glucose op geleide van de gemeten bloedglucosespiegels wordt afgegeven is (zie fig. 7.3.):

$$DR = RD \times \left\{ \frac{(BD - G)}{QD} + 1 \right\}^4$$



Figuur 7.3.: De glucoseafgifte van de Biostator.

**DR** is de glucoseafgifte van de Biostator in mg/min. De hoogte van de DR wordt bepaald door de gemeten bloedglucosespiegel in combinatie met andere in de formule voorkomende parameters.

**BD** is de bloedglucosespiegel die als gewenst streefniveau kan worden ingevoerd in het algoritme.

**RD** is de door de Biostator afgegeven hoeveelheid glucose in mg/min op het moment dat de gemeten bloedglucosespiegel zich bevindt op het niveau van de BD (de gewenste spiegel).

**QD** is een (meestal kort) bloedglucosetraject boven de ingestelde BD. De glucoseafgifte van de Biostator begint (of eindigt) dan bij een gemeten bloedglucosewaarde van  $BD + QD$ . Deze eveneens instelbare constante geeft dus als het ware de mogelijkheid aan de Biostator om te anticiperen op bloedglucosewijzigingen en voorkomt dat de wijzigingen in de glucoseafgifte rond de ingestelde BD te abrupt plaats vinden.

**G** is het gemiddelde van 6 glucosemetingen die door de Biostator in 1 minuut worden gedaan. De substitutie van deze variabele in de formule gebeurt door de Biostator "zelf", de andere variabelen zijn door de onderzoeker in te stellen.

Te zien is dat in het algemeen de RD (de af te geven glucose op het gewenste glucoseniveau (BD)), het beste zodanig kan worden ingesteld dat de waarde gelijk is aan de verwachte glucosebehoefte per minuut onder de op dat moment heersende omstandigheden. Immers op het moment dat BD (gewenste glucoseniveau) gelijk wordt aan G (gemeten glucoseniveau) wordt DR (afgegeven glucose) gelijk aan RD (af te geven glucose bij bereiken van BD). Indien de som van dat deel van de formule dat tot de vierde macht wordt verheven, niet gelijk is aan 1, wordt de RD met een vierdemachtsfunctie vermenigvuldigd. Dit houdt in dat bij een progressief te laag uitvallen van de glucosemeting (G) de glucoseafgifte (DR) zeer snel toe zal nemen. Indien het gemeten glucoseniveau stijgt boven de waarde van  $BD + QD$ , dan zal de uitkomst van de formule zeer sterk toenemen. Het programma is zodanig geschreven dat, indien het deel van de formule dat tot de vierdemacht wordt verheven kleiner of gelijk aan nul wordt, de DR op nul wordt gesteld. Uit de samenstelling van de formule blijkt dat de vierdemachtsfunctie die erin wordt weergegeven, in combinatie met G (de gemeten glucosespiegel) geheel wordt bepaald door de QD en de RD. Met de QD wordt dan in wezen vastgelegd op welk bloedglucoseniveau boven de BD de glucoseafgifte van de Biostator moet beginnen om doorschieten bij een eventuele daling te voorkomen. Met de instelling van de RD wordt getracht om, indien het bloedglucoseniveau zich bevindt op de gewenste waarde, de glucoseafgifte zoveel mogelijk gelijk te doen zijn aan de daadwerkelijke behoefte van de patiënt op dat moment. De combinatie van QD en RD bepaalt dus de "felheid" waarmee de glucose door de Biostator wordt afgegeven. Op het eerste gezicht lijkt het aantrekkelijk de QD zo laag mogelijk te kiezen, doch minimale veranderingen in de glucosemeting, bijvoorbeeld door kortdurende (niet relevante) flowveranderingen over de glucosesensor, kunnen dan onaangenaam grote effecten sorteren in glucoseafgifte. Verder is er een vertraging van ongeveer 3 minuten tussen het moment waarop bloed aangezogen wordt uit de patiënt en het moment van meting van de glucosespiegel in de sensor. Ook hierdoor is het ongewenst dat de glucoseafgifte al te fors is op een moment dat in de patiënt (maar nog niet in de Biostator) de glucosespiegel al weer bijna op het gewenste niveau is (bijvoorbeeld na een voorgaande ver-

storing van de registratie). Verwacht men tijdens de registratie snelle wisselingen van de glucosespiegel waarop door de Biostator gereageerd moet worden, dan is het verstandig om een relatief lage QD te kiezen; is er daarentegen sprake van een meer stabiele toestand dan kan deze waarde beter hoger worden genomen. De grootte van de RD die, zoals reeds eerder uiteengezet, de glucoseafgifte bij de BD is, zal voornamelijk bepaald worden door lichaamsgrootte en insulinegevoeligheid (dus verwachte glucose-toevoer).

### ***GLUCOSEINFUSIE.***

In de "infusion module" wordt glucose afgegeven naar de patiënt in een hoeveelheid die de uitkomst is van de elke minuut door de computer berekende noodzakelijke hoeveelheid. Tevoren wordt door invoering van nog een andere constante (FD) in de computer aangegeven wat de maximale hoeveelheid glucose is die per minuut kan worden afgegeven. Doordat bekend is welke glucoseconcentratie is gebruikt, en door ijking van de inhoud van de infusieslangen kan deze waarde nauwkeurig worden bepaald.



## ALGEMENE RESULTATEN.

Dit hoofdstuk is ingedeeld in:

1. Numerieke verwerking van diverse parameters.
2. Patiënten.
3. Insulinetoevoer en insulinespiegels.
4. Bloedglucoseplateaus.
5. Glucosetoevoer en glucosebehoefte.
6. Insulinetoevoer en glucosebehoefte.
7. Relaties tussen glucoseverbruik en spiegels van hormonen of vrije vetzuren.
8. Discussie.
9. Klinisch relevante conclusies.

### 1. NUMERIEKE VERWERKING VAN DIVERSE PARAMETERS.

De statistische methoden zijn vermeld in het onderdeel statistiek (zie de volgende paragraaf). Incidenteel is het aantal resultaten geringer dan het totale aantal experimenten. Dit is het gevolg van glasbreuk, problemen met de glucoseregistratie of mislukte bloedafname. De doelstelling in fase 3 was het (in maximaal 120 min) laten dalen van het bloedglucosegehalte naar 50 mg/dl. Op dat niveau kon stabilisering van het glucosegehalte optreden ten gevolge van de contraregulatie van de patiënt, maar ook (zo nodig) door glucosetoevoer door middel van de Biostator. In deze fase bleek dat er aanzienlijke verschillen waren in de snelheid waarmee het glucosegehalte in het bloed daalde. Dit had tot gevolg dat in 18 van de 35 experimenten de hypoglycemische fase 90 min duurde terwijl dat bij de overige (17) 120 min was. Terwille van de duidelijkheid worden hierna de punten uit die fase van achteren naar voren (in de tijd) genoemd.

De (bloedafname)punten werden als volgt gedefinieerd:

- PUNT 8** is 30 minuten na het beëindigen van de hypoglycemie d.m.v. glucose-infusie (400-420 mg/min).
- PUNT 7** is voor alle experimenten het einde van fase 3; het is dus het laatste en tevens laagste (mediaan 47 mg/dl) punt tijdens de hypoglycemie.
- PUNT 6** ligt 30 minuten voor punt 7, dus bij een hoger glucoseniveau.
- PUNT 5** ligt 30 minuten voor punt 6.
- PUNT 4** ligt 30 minuten voor punt 5. (Alleen bij 17 patiënten).
- PUNT 3** is de aanvang van de hypoglycemische fase.

Ten gevolge van de eerder genoemde verschillen in de duur van de hypoglycemische fase (90 of 120 min) ligt er dus tussen punt 3 en punt 5 bij 18 patiënten 30 minuten (gelijk aan de vorige tijdsintervallen) maar is deze tijdsspanne bij de rest (17 patiënten) 60 minuten. Bij deze laatste categorie patiënten is er dus het voornoemde (extra) punt 4, een punt overigens waarop geen hormoonregistraties werden gedaan. Op deze manier (synchronisatie op het laatste en laagste punt in de hypoglycemische fase) zijn de hormonale reacties meer vergelijkbaar, omdat het bloedglucoseniveau per monsterafnamepunt meer overeenstemt.

## 1.1. STATISTIEK<sup>561</sup>.

De resultaten zullen meestal worden weergegeven als mediaan-(range) dan wel als gemiddelde-(standaard deviatie volgens de n-methode)-(standard error of the mean). De laagste en de hoogste waarde van een range zijn steeds gescheiden door een schuine streep (bijvoorbeeld R 400/800). Er werd voor gepaarde of ongepaarde verschillen gebruik gemaakt van de non-parametrische toetsen volgens Wilcoxon. Incidenteel werden verschillen tussen groepen getest met behulp van de toets volgens Haldane. Bij meer dan twee groepen waarnemingen werden de resultaten getoetst met behulp van variantie-analyse. Voor het aantonen van correlaties werd gebruik gemaakt van de rangorde toets volgens Spearman ofwel werd er lineaire regressie analyse uitgevoerd naar de modificatie van Dehming. Toetsingen met een p-waarde  $\leq 0.05$  werden als significant beschouwd; bij verschillen (niet bij correlaties) werden p-waarden  $\leq 0.10$  beschouwd als uiting van een trend naar significantie.

## 2. PATIËNTEN.

### 2.1. AANTAL, LEEFTIJD, DIABETESDUUR, GESLACHT.

In totaal werden 35 patiënten onderzocht, terwijl bij 2 patiënten het experiment een tweede keer werd uitgevoerd zodat het totale aantal waarnemingen op 37 komt. De duplo-experimenten zullen apart worden besproken (zie discussie Hoofdstuk 9) en zijn in de algemene resultaten niet verder betrokken.

De gemiddelde leeftijd was 31 jaar (SD 10) (SEM 2). De mediaan was 28 jaar (R 17/60). De gemiddelde diabetesduur was 15 jaar (SD 7) (SEM 1). De mediaan was 15 jaar (R 2/33). Er was geen verband in de onderzochte populatie tussen diabetesduur en leeftijd ( $r=0.23$ ). Het gemiddelde gehalte aan geglycosyleerd hemoglobine bedroeg 8.1% (SD 1.08) (SEM 0.18). De mediaan was 8.1% (R 5.8/10.7). Er waren 20 mannen en 15 vrouwen betrokken bij de experimenten. De C-peptidespiegels waren bij de patiënten tijdens de proef kleiner dan 0.05 nmol/l. Een uitvoerige opsomming van individuele patiëntengegevens met betrekking tot deze variabelen staat vermeld in de appendix (tabel A.1.).

### 2.2. LENGTE, GEWICHT, LICHAAMSOPPERVLAK EN BODY MASS INDEX.

De waarnemingen staan in tabel 8.1. De body mass index (B.M.I.) is het lichaamsgewicht (kg) gedeeld door de gekwadeerde lengte (m). Een uitvoerige opsomming van individuele patiëntengegevens met betrekking tot deze variabelen staat vermeld in de appendix (tabel A.1.).

**TABEL 8.1.:** De lichaamsparameters: Lengte (cm), gewicht (kg), oppervlak (m<sup>2</sup>), B.M.I. (kg/m<sup>2</sup>).

	LENGTE	GEWICHT	OPPERVLAK	B.M.I.
MED.	174	67	1.79	22
GEM.	174	67	1.81	22
SD.	10	11	0.19	2
SEM.	2	2	0.03	0
RANGE.	157 / 197	46 / 87	1.47 / 2.20	16 / 26

### 3. INSULINETOEVOER EN INSULINESPIEGELS.

De individueel bepaalde insulinetoevoer werd na het beëindigen van fase 0 en fase 1 verhoogd naar een vaste hoeveelheid van 30 mE/m<sup>2</sup>/min. De grootte van de twee insulinetoevoeren staat in tabel 8.2. Hoewel de medianen uiteraard duidelijk verschillen, is er overlap tussen de hoogste range van de lage insulinetoevoer en het laagste bereik van de hoge insulinetoevoer. Dit is het gevolg van het feit dat één patiënt in de fase met de lage insulinetoevoer om het gewenste glucoseniveau te handhaven een insulinetoevoer nodig had die (reeds) gelijk was aan de verhoogde insulinetoevoer per m<sup>2</sup> die voor alle patiënten gelijk was.

De bereikte insulinespiegels staan vermeld in tabel 8.3. Hoewel ook hier de medianen van de insulinespiegels die het gevolg waren van de lage en de verhoogde insulinetoevoer duidelijk verschillend zijn is er een zéér grote range waarin vooral de hoge waarden opvallen. Één en ander wordt geheel veroorzaakt door 2 patiënten met opvallend hoge vrije insulinespiegels, ondanks het feit dat noch hun insulinetoevoer noch hun glucoseverbruik wezenlijk verschilde van de andere patiënten. Het opnieuw bepalen van deze spiegels leverde dezelfde resultaten op.

Bij variantieanalyse bleek dat de insulinespiegels op punt 1 en 2 verschilden van de insulinespiegels op punt 3,5,6,7 en 8 als gevolg van het verhogen van de insulinetoevoer (p<0.01). Alle insulinespiegels op de punten met de verhoogde insulinetoevoer te weten 3,5,6,7 en 8 verschilden niet van elkaar.

**TABEL 8.2.:** De insulinetoevoer (laag en hoog) in absolute hoeveelheden (mE/min) en per m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak (mE/m<sup>2</sup>/min) in de fasen van het experiment.

	LAGE INSULINETOEVOER		HOGE INSULINE TOEVOER	
	FASE 0, FASE 1		FASE 2, FASE 3, FASE 4	
	ABSOLUUT	PER M <sup>2</sup>	ABSOLUUT	PER M <sup>2</sup>
MED.	17	10	53	30
GEM.	20	11	54	30
SD.	10	6	6	0
SEM.	2	1	1	0
RANGE.	5 / 58	3 / 30	44 / 66	30 / 30

**TABEL 8.3.:** De insulinespiegels op de bloedafnamepunten (mE/l).

	FASE 0	FASE 1	FASE 2	FASE 3			FASE 4
PUNT	1	2	3	5	6	7	8
MED.	34	35	60	61	60	58	57
GEM.	38	39	67	70	67	67	66
SD.	32	30	38	43	38	40	38
SEM.	6	6	7	8	7	7	7
RANGE VAN	12	15	34	26	26	30	22
RANGE TOT	192	179	240	272	248	260	252

#### 4. BLOEDGLUCOSEPLATEAUS.

In tabel 8.4. worden de begin- en eindwaarden van de bloedglucosespiegels tijdens de plateaus vermeld. De mediane duur van het plateau in fase 0 was 60 min, in fase 1 60 min, in fase 2 60 min en in het gestabiliseerde deel van fase 3 30 min.

Soms was in een experiment de glucosespiegel kortdurend boven de nierdrempel (180 mg/dl). Bij alle patiënten werd om die reden de tijdens de proef geproduceerde urine gecontroleerd op glucose. Dit werd niet gevonden.

**TABEL 8.4.:** De glucosespiegels (mg/dl) aan het begin en aan het einde van de plateaus in de fasen; B: Glucosespiegel aan het begin van een plateau in een fase, E: Glucose-spiegel aan het einde van een plateau in een fase.

	B	E	B	E	B	E	B	E
	FASE 0		FASE 1		FASE 2		FASE 3S	
MED.	81	81	149	166	147	151	47	47
GEM.	81	83	166	163	148	152	49	48
SD.	23	30	20	23	25	18	11	10
SEM.	4	5	3	4	4	3	2	2
RANGE VAN	36	39	132	98	89	115	33	29
RANGE TOT	139	200	224	218	214	203	80	81

#### 5. GLUCOSETOEVOER EN GLUCOSEBEHOEFTE.

##### 5.1. GLUCOSETOEVOER IN DE FASEN.

De absolute grootte van de glucosetoevoer in de diverse fasen staat in tabel 8.5. De hoeveelheid per m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak staat in tabel 8.6.

**TABEL 8.5.:** De absolute grootte van de glucosetoevoer (mg/min).

	FASE 0	FASE 1	FASE 2	FASE 3S
MED.	0	118	256	0
GEM.	0	117	283	28
SD.	0	58	110	54
SEM.	0	10	19	9
RANGE.	0 / 0	0 / 305	129 / 675	0 / 217

**TABEL 8.6.:** De glucosetoevoer per m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak (mg/m<sup>2</sup>/min).

	FASE 0	FASE 1	FASE 2	FASE 3S
MED.	0	66	144	0
GEM.	0	66	157	16
SD.	0	33	59	30
SEM.	0	6	10	5
RANGE.	0 / 0	0 / 161	75 / 369	0 / 123

**5.2. GLUCOSEBEHOEFTE IN DE FASEN.**

Eerder al werd uitvoeriger ingegaan op het feit dat, indien gedurende een "glucose clamp" het plateau geheel stabiel is, de glucosetoevoer gelijk is aan de glucosebehoefte. Het is dan niet nodig de glucosetoevoer te corrigeren bij de berekening van de glucosebehoefte (met behulp van het verdelingsvolume van glucose). Bij een niet geheel stabiel plateau of bij een juist nadrukkelijk gewenste stijging of daling van de bloedglucosespiegel kan het verdelingsvolume van glucose worden aangewend om de glucosebehoefte op elk moment gedurende die "instabiele clamp" te berekenen. De zo berekende **GLUCOSEBEHOEFTE** is dan een maat voor de hoeveelheid glucose die geïnfundeerd had moeten worden om de glucosespiegel stabiel te houden op het niveau waarop de glucosebehoefte werd berekend. Indien het noodzakelijk blijkt om glucose toe te voeren, teneinde het glucoseplateau stabiel te houden, is er een positieve glucosebehoefte (lees: er is meer glucoseverbruik dan glucoseproductie). Indien er sprake is van stijging van het glucoseniveau (lees: er is meer glucoseproductie dan glucoseverbruik) dan is er een negatieve glucosebehoefte (er zou dan eigenlijk om het niveau stabiel te houden glucose aan het systeem onttrokken moeten worden).

De absolute grootte van de glucosebehoefte in de diverse fasen staat vermeld in tabel 8.7. De grootte van de glucosebehoefte per m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak staat in tabel 8.8.

**TABEL 8.7.:** De absolute grootte van de glucosebehoefte (mg/min).

	FASE 0	FASE 1	FASE 2	FASE 3S
MED.	0	103	257	8
GEM.	1	106	281	28
SD.	30	66	130	82
SEM.	5	11	22	14
RANGE	-112 / 89	-37 / 372	58 / 681	-110 / 294

**TABEL 8.8.:** De glucosebehoefte per m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak (mg/m<sup>2</sup>/min) in de diverse fasen.

	FASE 0	FASE 1	FASE 2	FASE 3S
MED.	0	55	141	4
GEM.	0	59	155	16
SD.	17	36	69	45
SEM.	3	6	12	8
RANGE.	-60 / 46	-20 / 197	36 / 385	-60 / 152

### 5.3. CORRELATIE TUSSEN GLUCOSETOEVOER EN GLUCOSEBEHOEFTE IN DEZELFDE FASE.

In een ideale situatie, met een volledig stabiel glucoseplateau, dient de correlatie tussen de glucosetoevoer en de glucosebehoefte maximaal te zijn, dat wil zeggen een correlatie coëfficiënt van 100% te hebben. De grootte van het verdelingsvolume van glucose heeft hierop geen invloed. Bij eventuele afwijkingen is dit het gevolg van een niet stabiel plateau.

In fase 1 was er een duidelijke correlatie tussen de beide variabelen (per m<sup>2</sup> uitgedrukt) ( $p < 0.001$ ,  $r = 0.79$ ).

Ook in fase 2 was er een duidelijke correlatie tussen de beide variabelen (per m<sup>2</sup> uitgedrukt) ( $p < 0.001$ ,  $r = 0.85$ ).

### 5.4. DE FASEN: VERSCHIL IN GLUCOSETOEVOER; VERSCHIL IN GLUCOSEBEHOEFTE; CORRELATIE TUSSEN GLUCOSEBEHOEFTE; (CORRELATIE TUSSEN GLUCOSETOEVOEREN).

#### 5.4.1. FASE 0 EN FASE 1.

De insulinetoevoer bleef in fase 1 ongewijzigd ten opzichte van die in fase 0 en derhalve is de geconstateerde toeneming in glucoseverbruik in fase 1 ten opzichte van fase 0 het gevolg van de aangebrachte verhoging van de glucosespiegel.

Het verschil in mediane glucosetoevoer tussen fase 0 en fase 1 bedroeg 66 mg/m<sup>2</sup>/min (zie tabel 8.6.).

De glucosebehoefte was in fase 1 groter dan in fase 0. Het verschil tussen de medianen bedroeg 55 mg/m<sup>2</sup>/min ( $p < 0.001$ ) (zie tabel 8.8.).

Er was geen correlatie aanwezig tussen de glucosebehoefte per m<sup>2</sup> in fase 0 en de glucosebehoefte per m<sup>2</sup> in fase 1 ( $r=0.20$ ). (Zie discussie).

#### **5.4.2. FASE 1 EN FASE 2.**

Zoals eerder vermeld was het verschil tussen beide fasen het verhogen van de insuline-toevoer van een individueel bepaalde hoeveelheid (in fase 0 en fase 1) naar een vaste, verhoogde hoeveelheid van 30 mE/m<sup>2</sup>/min in fase 2.

De glucosetoevoer was in fase 2 groter dan in fase 1. Het verschil tussen de medianen was 78 mg/m<sup>2</sup>/min ( $p<0.001$ ) (zie tabel 8.6.).

De glucosebehoefte in fase 2 was groter dan in fase 1. Het verschil tussen de medianen was 86 mg/m<sup>2</sup>/min ( $p<0.001$ ) (zie tabel 8.8.).

Er was een correlatie tussen de glucosebehoefte per m<sup>2</sup> in fase 1 en de glucosebehoefte per m<sup>2</sup> in fase 2 ( $p<0.05$ ,  $r=0.34$ ).

#### **5.4.3. FASE 2 EN FASE 3S.**

De glucosetoevoer in fase 2 was hoger dan in het stabiele deel van fase 3 (fase 3s). Het verschil tussen de medianen was 144 mg/m<sup>2</sup>/min ( $p<0.001$ ) (zie tabel 8.6.).

De glucosebehoefte in fase 2 was hoger dan in fase 3s (alle patiënten). Het verschil tussen de medianen was 137 mg/m<sup>2</sup>/min (zie tabel 8.8.).

Er was geen duidelijke correlatie aanwezig in de glucosetoevoer per m<sup>2</sup> in fase 2 en het stabiele deel van fase 3 ( $p\leq 0.10$ ,  $r=0.31$ ).

Er werd geen correlatie gevonden tussen de glucosebehoeften per m<sup>2</sup> in fase 2 en fase 3.

##### **5.4.3.1. Correlatie tussen glucosebehoefte in fase 2 en glucosetoevoer in fase 3s.**

Er was wel een correlatie tussen de glucosebehoefte per m<sup>2</sup> in fase 2 en de glucosetoevoer per m<sup>2</sup> in het stabiele deel van fase 3 ( $p<0.05$ ,  $r=0.35$ ).

## **6. INSULINETOEVOER EN GLUCOSEBEHOEFTE IN DE FASEN.**

De glucosebehoefte per m<sup>2</sup> in fase 0 toonde een correlatie met de individueel bepaalde insulinetoevoer per m<sup>2</sup> ( $p<0.01$ ,  $r=0.46$ ).

De glucosebehoefte per m<sup>2</sup> in fase 1 (die zich zoals eerder vermeld van die in fase 0 onderscheidde door een verhoging van het glucoseniveau alleen) toonde geen duidelijke correlatie met de individueel bepaalde lage insulinetoevoer per m<sup>2</sup> ( $p<0.10$ ,  $r=0.31$ ).

De variatiecoëfficiënt van de glucosebehoefte per m<sup>2</sup> bij de gelijke insulinetoevoer van 30 mE/m<sup>2</sup>/min in fase 2 was 44%.

De variatiecoëfficiënt van de glucosebehoefte per m<sup>2</sup> in het stabiele deel van fase 3 bij de gelijke insulinetoevoer (van 30 mE/m<sup>2</sup>/min) was 266%.



## **7. RELATIES TUSSEN GLUCOSEVERBRUIK EN SPIEGELS VAN HORMONEN OF VRIJE VETZUREN.**

De hierna weer te geven correlaties zijn steeds tussen een hormoonspiegel en de glucosetoevoer en/of de glucosebehoefte per m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak. Bij de toetsing is rekening gehouden met de mogelijkheid dat zowel de hormoonspiegel het daarna gemeten glucoseverbruik kan beïnvloeden als dat het glucoseverbruik de daarna gemeten hormoonspiegel kan beïnvloeden.

### **7.1. ADRENALINE, NORADRENALINE, GLUCAGON, GROEIHORMOON EN GLUCOSEVERBRUIK IN FASE 0, FASE 1 EN FASE 2.**

Er waren geen correlaties met het glucoseverbruik.

### **7.2. CORTISOL EN GLUCOSEBEHOEFTE IN FASE 0, FASE 1 EN FASE 2.**

Er bestond een negatief verband tussen de cortisolspiegels op punt 1 en de glucosebehoefte in fase 2 ( $p \leq 0.05$ ,  $r = -0.40$ ).

Ook was er een negatief verband tussen de cortisolspiegels op punt 2 en de glucosebehoefte in fase 2 ( $p < 0.05$ ,  $r = -0.36$ ).

Tenslotte was ook op punt 3 een negatief verband tussen cortisolspiegels en glucosebehoefte in fase 2 ( $p \leq 0.01$ ,  $r = -0.44$ ).

### **7.3. VRIJE VETZUREN EN GLUCOSEBEHOEFTE IN FASE 0, FASE 1 EN FASE 2.**

Er was een negatief verband tussen de vrije vetzuurspiegels op punt 2 en de totale glucosebehoefte in fase 2 ( $p < 0.01$ ,  $r = -0.56$ ).

## **8. DISCUSSIE.**

Zowel aan de glucosetoevoer (zonder correcties) als aan de glucosebehoefte in de diverse fasen is de grootte van het massaffect<sup>155,156</sup> van glucose duidelijk te zien. De mediane glucosebehoefte gaat in de uitgangssituatie (fase 0) naar fase 1 van 0 mg/m<sup>2</sup>/min naar 55 mg/m<sup>2</sup>/min en dat is ruim de helft van de toeneming die plaats heeft onder invloed van de verhoging van de insulinetoevoer (van 55 mg/m<sup>2</sup>/min naar 141 mg/m<sup>2</sup>/min).

Indien men verwacht dat het massaffect van glucose géén belangrijke rol speelt bij de glucoseverwerking<sup>185</sup>, dan is het logisch om een verband te veronderstellen tussen de glucosebehoefte in fase 0 en fase 1, omdat de verhoging van de glucosespiegel dan géén belangrijke invloed zou mogen hebben op individuele verschillen in glucosebehoefte tussen deze beide fasen. Aangezien het omgekeerde (dat wil zeggen géén relatie tussen de glucosebehoefte in fase 0 en fase 1) juist werd gevonden, pleit dit voor de stelling dat er wel belangrijke individuele verschillen tussen patiënten kunnen zijn met betrekking tot het massaffect van glucose.

In tegenstelling tot de situatie met verhoging van de glucoseconcentratie blijkt dat er na verhoging van de insulineconcentratie wel een verband aanwezig blijft tussen de glucosebehoefte (in fase 1 en fase 2). Dit duidt erop dat de insulineverhoging bij de individuele patiënten een veel sterker verband laat bestaan in de glucosebehoefte voor en na de verandering van de insulinespiegel dan dat zulks het geval is met verandering van de glucosespiegel.

De theoretische mogelijkheid is aanwezig dat er een relatie bestaat tussen de glucosebehoefte in fase 2 en het deel van fase 3 waarin de glucosespiegel (zo) stabiel (mogelijk) werd gehouden (fase 3s). Indien individuele verschillen in de (effectieve) kwaliteit van de contraregulatie sterke determinanten zijn van de glucosebehoefte, is het te verwachten dat de aangegeven relatie niet aanwezig is. Indien individuele verschillen in insulinegevoeligheid echter belangrijker zijn dan verschillen in tegenregulerend vermogen, is de relatie wel te verwachten. Aangezien wij bij de berekeningen in fase 3s geen "poolfraction"<sup>1</sup> gebruikten, is het gebruik van de glucosebehoefte in fase 3s discutabel (alleen dáár is het discutabel, niet in de andere fasen). Bij een analyse lijkt het dus veiliger om de glucosetoevoer te gebruiken. Het bleek dat er een verband was tussen de glucosebehoefte in fase 2 en de glucosetoevoer in fase 3s. Deze bevinding is dus een argument voor de stelling dat individuele verschillen in insuline-effect meer bepalend lijken voor het meer of minder effectief kunnen contrareguleren dan individuele verschillen in het aanwezige potentieel aan contraregulatie.

Hoewel zowel glucosespiegels als spiegels van de contraregulerende hormonen elkaar wederzijds beïnvloeden<sup>477</sup>, is het door de veelheid van variabelen die invloed hebben op deze parameters zeer wel mogelijk dat een eventuele relatie tussen beide niet wordt gevonden zonder dat dit in werkelijkheid een relatie uitsluit. Een analoge redenering geldt voor de relatie tussen glucosebehoefte en spiegels van de contraregulerende hormonen. Het is dus niet zo verwonderlijk dat veel van deze potentiële verbanden niet werden gevonden; in sommige gevallen was dit toch wel het geval. De cortisolspiegels vertoonden tot het moment waarop de hypoglycemie werd geïnduceerd een relatie met de glucosebehoefte. Dat was zowel het geval bij de lage als bij de verhoogde glucosespiegels met lage of verhoogde insulinetoevoer. Het zou kunnen pleiten voor een dominant effect van cortisol ten opzichte van de andere bij de contraregulatie van belang zijnde hormonen op de glucosebehoefte in de nacht (zie ook de bespreking in Hoofdstuk 3). Het verband tussen de vrije vetzuurspiegels en de glucosebehoefte in de fase met verhoogde glucose- en insulinespiegels (fase 2) pleit voor de stelling dat mogelijk niet zozeer hyperglycemie, maar met name de door cellen opgenomen hoeveelheid glucose, de factor is die de vrije vetzuurspiegel bepaalt.

Er waren geen duidelijke verbanden tussen de graad van retinopathie, de kwaliteit van de diabetesregulatie en diverse contraregulerende hormonen.

## 9. KLINISCH RELEVANTE CONCLUSIES:

1. Het massaffect van glucose is van aanzienlijke omvang met betrekking tot de invloed op de totale glucoseopname in het lichaam. Het is vooral van belang bij relatief lage insulinespiegels en heeft een stabiliserende werking op de glucosespiegel (glucose autoregulatie). De omvang is waarschijnlijk wisselend in de loop van een normale dag als gevolg van veranderende insuline- en glucosespiegels.

2. Insulinegevoeligheid lijkt een belangrijker determinant van de noodzakelijke glucosetoevoer ter voorkoming van hypoglycemie dan het potentiëel aan aanwezige contra-regulatie. Door individuele aanpassing van de insulinedosering wordt dit verschil wel minder groot.

## RESULTATEN VAN GLUCOSE AFHANKELIJK EN GLUCOSE ONAFHANKELIJK GLUCOSEVERBRUIK.

Dit hoofdstuk is ingedeeld in:

1. Glucose afhankelijke en glucose onafhankelijke glucosebehoefte; genormeerde glucosebehoefte.
2. Glucose afhankelijke glucosebehoefte in relatie tot hormonen en vrije vetzuren.
3. Correlaties tussen glucose afhankelijke en/of glucose onafhankelijke glucosebehoefte bij lage en/of hoge insuline-toevoer.
4. Correlaties van glucose afhankelijke of glucose onafhankelijke glucosebehoefte met de totale glucosebehoefte.
5. Discussie.
6. Klinisch relevante conclusies.

### 1. GLUCOSE AFHANKELIJKE EN GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE; GENORMEERDE GLUCOSEBEHOEFTE.

Terwille van de duidelijkheid volgt nog een korte herhaling van enkele eerder besproken principes. De mate waarin de glucosebehoefte afhangt van het glucoseniveau in het bloed kan in fase 0 en fase 1 worden vastgesteld met behulp van het verschil in glucosebehoefte tussen beide fasen. De mate waarin de glucosebehoefte afhangt van het glucoseniveau in het bloed (in fase 2 en 3) kan worden vastgesteld door middel van berekeningen die betrekking hebben op de mate van kromming van de (dalende) curve van de glucosespiegel in het bloed zoals die in fase 3 plaats heeft (zie Hoofdstuk 5 voor formules betreffende de berekening).

Onder invloed van een toenemende glucosespiegel in het bloed zal dat deel van de totale glucosebehoefte dat van deze glucosespiegel afhankelijk is toenemen, terwijl het van de glucosespiegel onafhankelijke deel constant blijft. Proportioneel zal dus bij een stijgende glucosespiegel het aandeel van het glucosespiegel afhankelijke deel van de totale glucosebehoefte toenemen. Onder elke vorm van glucosebehoefte die hier wordt aangeduid wordt steeds verstaan het netto-effect van alle glucose producerende en glucose verbruikende processen tezamen, met andere woorden, indien de uitkomst positief is wil dat zeggen dat het totaal van glucose verbruikende processen de overhand heeft over het totaal van glucose producerende processen. Indien de uitkomst negatief is, is er (kennelijk) op dat moment meer glucoseproductie dan glucoseverbruik. De hierna steeds gebruikte term "**GENORMEERDE GLUCOSEBEHOEFTE**" wil zeggen dat indien meting van de glucosebehoefte niet bij 150 mg/dl plaats vond, het resultaat van deze meting werd gecorrigeerd voor de afwijking van de glucosespiegel ten opzichte van 150 mg/dl. Genormeerde glucosebehoefte is dus de (zodanig berekende) glucosebehoefte bij exact 150 mg/dl (zie Hoofdstuk 5 voor eventueel noodzakelijke verdere toelichting).

# 1.1. GENORMEERDE GLUCOSE AFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE.

## 1.1.1. LAGE INSULINETOEVOER.

De waarden staan in tabel 9.1. In elk van de 35 (100%) waarnemingen was er afhankelijkheid van de glucosebehoefte van de glucosespiegel in het bloed.

## 1.1.2. VERHOOGDE INSULINETOEVOER (30 ME/M<sup>2</sup>/MIN).

De waarden staan in tabel 9.1. In 15 van de 35 waarnemingen (43%) was de afhankelijkheid van de glucosebehoefte van de heersende glucosespiegel onder invloed van de verhoogde insulinetoevoer verloren gegaan, terwijl glucose afhankelijkheid van de glucosebehoefte bij de aanvang van het experiment in alle gevallen (zoals vermeld in paragraaf 1.1.1.) aanwezig was.

Een uitvoerige opsomming van individuele patiëntengegevens met betrekking tot dit item staat vermeld in de appendix (tabel A.2.).

**TABEL 9.1.:** De genormeerde glucose afhankelijke glucosebehoefte bij de lage en de verhoogde insulinetoevoer als absolute hoeveelheden (mg/min) en per m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak (mg/min/m<sup>2</sup>).

	LAAG ABS.	HOOG ABS.	LAAG PER M <sup>2</sup>	HOOG PER M <sup>2</sup>
MED.	204	106	104	60
GEM.	218	139	121	75
SD.	118	168	68	88
SEM.	21	29	12	15
RANGE.	10 / 525	0 / 603	6 / 298	0 / 308

## 1.1.3. GLUCOSE AFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE BIJ DIVERSE GLUCOSENIVEAUS (LAGE EN HOGE INSULINETOEVOER).

De resultaten staan weergegeven in tabel 9.2.

**TABEL 9.2.a.:** De glucose afhankelijke glucosebehoefte bij diverse glucosespiegels (mg/dl); de waarden absoluut (mg/min).

GLU SPIEGEL	LAGE INSULINE- TOEVOER				HOGE INSULINE- TOEVOER			
	150	100	70	50	150	100	70	50
ABSOLUUT								
MED.	204	134	94	68	106	68	48	38
GEM.	218	143	98	71	139	92	65	46
SD.	118	80	55	41	168	112	78	56
SEM.	21	14	10	7	29	19	13	10
RANGE VAN	10	7	5	4	0	0	0	0
RANGE TOT	525	350	245	176	603	402	281	201

**TABEL 9.2.b.:** De glucose afhankelijke glucosebehoefte bij diverse glucosespiegels (mg/dl); de waarden per m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak in (mg/m<sup>2</sup>/min).

GLU SPIEGEL	LAGE INSULINE- TOEVOER				HOGE INSULINE- TOEVOER			
	150	100	70	50	150	100	70	50
PER M <sup>2</sup>								
MED.	104	68	47	34	60	39	27	21
GEM.	121	80	55	40	75	50	35	25
SD.	68	45	30	23	88	59	41	29
SEM.	12	8	5	4	15	10	7	5
RANGE VAN	6	4	3	2	0	0	0	0
RANGE TOT	298	198	130	99	308	205	144	103

**1.2. GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE.**

De resultaten staan in tabel 9.3.

**TABEL 9.3.:** De glucose onafhankelijke glucosebehoefte bij de lage en de ver-  
hoogde insulinetoevoer als absolute hoeveelheden (mg/min) en  
per m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak (mg/min/m<sup>2</sup>).

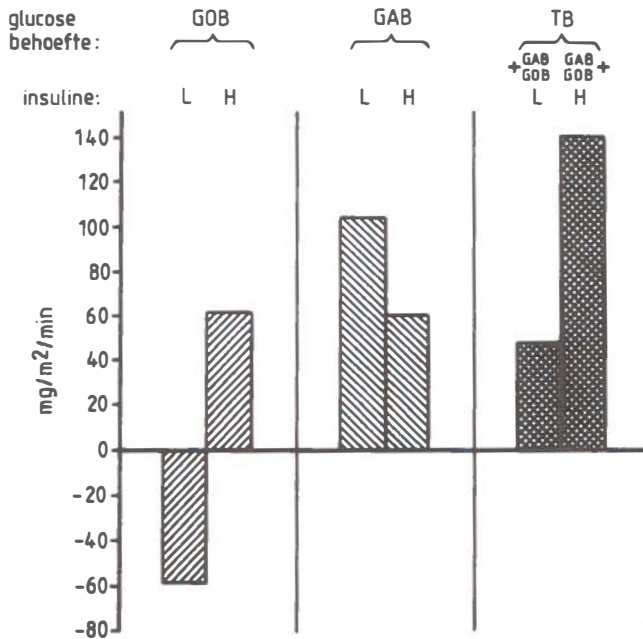
	LAAG ABS.	HOOG ABS.	LAAG PER M <sup>2</sup>	HOOG PER M <sup>2</sup>
MED.	-111	118	-59	62
GEM.	-129	149	-72	83
SD.	113	193	69	106
SEM.	20	33	12	18
RANGE.	-568 / 41	-162 / 682	-371 / 24	-80 / 385

**1.3. TOTALE GENORMEERDE GLUCOSE AFHANKELIJKE EN GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE.**

De resultaten staan in tabel 9.4. De belangrijkste mediane waarden van de (genormeerde) glucose afhankelijke en glucose onafhankelijke glucosebehoefte alsmede de (genormeerde) totale glucosebehoefte per m<sup>2</sup> staan in fig. 9.1. weergegeven. De reden dat de totale glucosebehoefte niet gelijk is aan de som van glucose afhankelijke en glucose onafhankelijke behoefte is het feit dat er met medianen is gewerkt.

**TABEL 9.4.:** De totale genormeerde glucosebehoefte bij de lage en de verhoogde insulinetoevoer als absolute hoeveelheden (mg/min) en per m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak (mg/min/m<sup>2</sup>).

	LAAG ABS.	HOOG ABS.	LAAG PER M <sup>2</sup>	HOOG PER M <sup>2</sup>
MED.	84	268	47	141
GEM.	89	287	49	158
SD.	78	129	43	67
SEM.	14	22	8	11
RANGE.	-112 / 371	78 / 682	-73 / 196	45 / 385



**Figuur 9.1.:** Links: De verandering van glucose onafhankelijke glucosebehoefte onder invloed van verandering van lage naar verhoogde insulinetoevoer. Midden: De verandering van glucose afhankelijke glucosebehoefte onder invloed van verandering van lage naar verhoogde insulinetoevoer. Rechts: De verandering van totale glucosebehoefte onder invloed van verandering van lage naar verhoogde insulinetoevoer.

## 2. GLUCOSE AFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE IN RELATIE TOT HORMONEN EN VRIJE VETZUREN.

Alhoewel vooralsnog veranderingen in de glucosebehoefte onder andere het gevolg zijn van een direct effect van de glucosespiegel op de glucose verbruikende en producerende processen, is een indirect effect ook mogelijk. Onder een indirect effect kan



bijvoorbeeld de invloed van het bloedglucosegehalte op de glucagonafgifte verstaan worden. Een lagere glucagonspiegel kan de glucoseproductie in de lever beïnvloeden en daarmee ook de glucosebehoefte. Om deze reden werd getest of er een correlatie was tussen de verandering van een (mogelijk hierop van invloed zijnde) hormoonspiegel tussen punt 1 en punt 2 en de verandering van de totale glucosebehoefte in fase 0 ten opzichte van fase 1. De enige variabele die deze veranderingen beïnvloedt is de verandering van de glucosespiegel (van 82 mg/dl naar 165 mg/dl). De weergegeven glucosebehoeften zijn per m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak. Er werd getest (in formule weergegeven):

$$\frac{HS_1 - HS_2}{HS_1} \text{ v.s. } B_1 - B_0$$

waarbij HS<sub>1</sub> de hormoonspiegel op punt 1 is, HS<sub>2</sub> de hormoonspiegel op punt 2 is, B<sub>1</sub> de glucosebehoefte in fase 1 is en B<sub>0</sub> de glucosebehoefte is in fase 0. Er werd voor geen enkel contraregulerend hormoon een correlatie gevonden met de verandering van de glucosebehoefte die ontstond als gevolg van de verhoging van de glucosespiegel.

## **2.1. GENORMEERDE GLUCOSE AFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE IN RELATIE TOT HORMONEN EN VRIJE VETZUREN BIJ LAGE EN VERHOOGDE INSULINETOEVOER.**

Er waren geen correlaties bij de lage insulinetoevoer. Er was een negatieve correlatie tussen de genormeerde glucose afhankelijke glucosebehoefte per m<sup>2</sup> bij de verhoogde insulinetoevoer en de vrije vetzuurspiegels op punt 3 (p<0.05, r=-0.34).

## **3. CORRELATIES TUSSEN GLUCOSE AFHANKELIJKE EN/OF ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE BIJ LAGE EN/OF HOGE INSULINETOEVOER.**

### **3.1. CORRELATIE TUSSEN VERANDERING VAN GENORMEERDE GLUCOSE AFHANKELIJKE- EN GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE ONDER INVLOED VAN WIJZIGING VAN LAGE NAAR VERHOOGDE INSULINETOEVOER.**

In formule weergegeven:

$$GAB_L - GAB_H \text{ ten opzichte van } GOB_L - GOB_H$$

waarbij GAB<sub>L</sub>: De (genormeerde) glucose afhankelijke glucosebehoefte bij de lage insulinetoevoer, GAB<sub>H</sub>: idem, maar dan bij de verhoogde insulinetoevoer, GOB<sub>L</sub>: de glucose onafhankelijke glucosebehoefte bij de lage insulinetoevoer en GOB<sub>H</sub>: idem, maar dan bij de verhoogde insulinetoevoer. Er was een negatieve correlatie aanwezig (p<0.001, r=-0.91).

**3.2. CORRELATIE TUSSEN GLUCOSE AFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE BIJ LAGE EN BIJ VERHOOGDE INSULINETOEVOER; CORRELATIE TUSSEN GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE BIJ LAGE EN BIJ VERHOOGDE INSULINETOEVOER.**

Er waren geen correlaties.

**3.3. CORRELATIE TUSSEN GENORMEERDE GLUCOSE AFHANKELIJKE EN GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE BIJ LAGE INSULINETOEVOER.**

Er was een negatieve correlatie ( $p < 0.001$ ,  $r = -0.88$ ).

**3.4. CORRELATIE TUSSEN GENORMEERDE GLUCOSE AFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE EN GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE BIJ VERHOOGDE INSULINETOEVOER.**

Er was een negatieve correlatie ( $p < 0.001$ ,  $r = -0.88$ ).

**4. CORRELATIES VAN GLUCOSE AFHANKELIJKE OF GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE MET DE TOTALE GLUCOSEBEHOEFTE.**

Indien het glucose afhankelijke deel van de glucosebehoefte een van belang zijnde determinant is van de totale glucosebehoefte, zou er, daar waar glucoseafhankelijkheid bestaat, ook een correlatie gevonden kunnen worden tussen de totale glucosebehoefte en de glucose afhankelijke glucosebehoefte. Deze mogelijke correlatie wordt in het onderstaande getoetst. Alle parameters in  $\text{mg}/\text{m}^2/\text{min}$ .

**4.1. CORRELATIE VAN GENORMEERDE GLUCOSE AFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE BIJ LAGE INSULINETOEVOER MET TOTALE GLUCOSEBEHOEFTE IN FASE 1 RESP. FASE 2.**

Er was een correlatie tussen de genormeerde glucose afhankelijke glucosebehoefte bij de lage insulinetoevoer en de totale glucosebehoefte in fase 1 ( $p < 0.001$ ,  $r = 0.66$ ), maar niet in fase 2 ( $r = 0.09$ ).

**4.2. CORRELATIE VAN GENORMEERDE GLUCOSE AFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE BIJ HOGE INSULINETOEVOER MET GLUCOSEBEHOEFTE IN FASE 1 RESP. FASE 2.**

Er waren geen correlaties ( $r = 0.00$  resp.  $r = 0.13$ ).

## 5. DISCUSSIE.

Een belangrijke constatering was dat bij een zéér aanzienlijk deel van de patiënten (43%) de afhankelijkheid van de glucosebehoefte van de glucosespiegel verloren ging onder invloed van een verhoging van de insulinespiegel. Aangezien de bereikte insulinespiegels (mediaan 60 mE/l) zeer frequent worden gevonden bij type I diabetes patiënten, is het aannemelijk dat dit fenomeen ook in de dagelijkse regulatie een rol speelt. Het is waarschijnlijk dat deze glucoseonafhankelijkheid een nogal tijdelijk fenomeen is, dat reversibel blijkt, indien de insulinespiegel wordt verlaagd. Het belangrijkste argument hiervoor is dat bij het begin van het experiment alle patiënten (in meerdere of mindere mate) afhankelijkheid van de glucosebehoefte van de glucosespiegel vertoonden. Op grond van de waarneming dat echter ook bij sommige patiënten een toeneming van de glucose afhankelijkheid onder invloed van insuline kan worden gevonden, kan de hypothese worden opgesteld dat bij verhoging van de insulinespiegel er initieel een toeneming van de glucose afhankelijkheid optreedt (tot een individueel maximum). Daarna kan deze toeneming bij verder stijgende insulineconcentratie, via een niet meer verder toenemen, overgaan in een afnemning van de glucose afhankelijkheid.

Aangezien glucose afhankelijkheid een stabiliserend effect heeft op de glucosespiegel, is deze waarneming een extra stimulans om in de praktijk van de diabetes behandeling te streven naar het zoveel mogelijk voorkomen van overinsulinisatie.

De (mediane) veranderingen van de glucose afhankelijke- en glucose onafhankelijke glucosebehoefte alsmede van de totale glucosebehoefte onder invloed van de veranderingen van de insulinetoevoer staan in fig. 9.1. Daarin is een opmerkelijke "omslag" te zien van de glucose onafhankelijke behoefte van netto productie (glucose onafhankelijke behoefte = - 59 mg/m<sup>2</sup>/min) naar netto utilisatie (glucose onafhankelijke behoefte = + 62 mg/m<sup>2</sup>/min). Het blijkt dat de glucose afhankelijke glucosebehoefte duidelijk afneemt onder invloed van de insulineverhoging, terwijl (uiteraard) de totale glucosebehoefte onder invloed van insulineverhoging sterk toeneemt.

Het feit dat er geen relaties werden gevonden tussen de mate van glucose afhankelijkheid en veranderingen van diverse hormonen onder invloed van de verandering van de glucoseconcentratie pleit voor de stelling dat directe effecten van het massaffect van glucose een belangrijker rol lijken te spelen bij de mate van glucose afhankelijkheid dan de (potentieel mogelijke) indirecte effecten van hormonale veranderingen die door veranderingen van de glucoseconcentratie worden geïnduceerd.

Het is bekend dat er een negatieve correlatie bestaat tussen vrije vetzuurspiegels en glucoseopname<sup>254</sup>. Het is niet bekend of dit het gevolg is van een beperking van de glucose afhankelijke dan wel van de glucose onafhankelijke glucosebehoefte. De gevonden negatieve correlatie tussen de glucose afhankelijke behoefte en de vrije vetzuurspiegels pleit voor de hypothese dat de bij verhoogde vrije vetzuurspiegels gevonden "insulineresistentie"<sup>266</sup> vooral wordt bepaald door beperking van glucose afhankelijkheid. Het is echter ook mogelijk dat "insulineresistentie" leidt tot beperking van glucose afhankelijkheid van de glucosebehoefte en dat gelijktijdig daarmee de lipolyse is toegenomen (eventueel in combinatie met verminderde opname van vrije vetzuren).

Aangezien de totale glucosebehoefte in elke situatie is opgebouwd uit de glucose afhankelijke en glucose onafhankelijke glucosebehoefte, is het zinvol om de verandering

van de glucose afhankelijke behoefte tegen de verandering van de glucose onafhankelijke glucosebehoefte na te gaan onder invloed van verandering in insulinetoevoer. Er bleek een duidelijke relatie ( $r=0.91$ ) aanwezig. De betekenis hiervan is dat bijvoorbeeld personen die onder invloed van de wijziging van de insulinetoevoer de grootste daling hadden in glucose afhankelijke glucosebehoefte ook de grootste stijging vertoonden in glucose onafhankelijke glucosebehoefte. Dit betekent weer dat twee personen die in een stabiele situatie identiek lijken te zijn, in "insulinegevoeligheid", toch geheel verschillend kunnen zijn in respectievelijk de glucose afhankelijke en glucose onafhankelijke glucosebehoefte (waaruit de totale behoefte is opgebouwd). Dit betekent dat bij deze personen de zelfregulerende werking van de glucosespiegel op de glucosebehoefte in die situatie sterk verschilt, hetgeen ongetwijfeld van invloed zal zijn op de reguleerbaarheid.

Het feit dat er geen correlaties bestaan tussen de glucose afhankelijke glucosebehoefte bij lage en hoge insulinetoevoer en tussen glucose onafhankelijke behoeften bij lage en bij hoge insulinetoevoer, geeft aan dat er dus onder invloed van de insulineverandering grote wijzigingen plaats vinden in deze parameters die in het algemeen bij individuele patiënten dus niet parallel lopen.

De sterk negatieve correlatie tussen genormeerde glucose afhankelijke- en glucose onafhankelijke glucosebehoefte bij zowel lage als hoge insulinetoevoer wijst op een zeer grote interindividuele variatie in glucose afhankelijkheid van de glucosebehoefte. Immers, gezien de grote interindividuele verschillen in totale glucosebehoefte was een dergelijke relatie niet direct voor de hand liggend.

Aangezien de totale glucosebehoefte bepaald wordt door de glucose afhankelijke en de glucose onafhankelijke glucosebehoefte, is het interessant om na te gaan welke vorm van glucosebehoefte de belangrijkste determinant is in de sommatie van beide, de totale glucosebehoefte, zowel bij lage als bij verhoogde insulinetoevoer. Het bleek dat er bij lage insulinetoevoer een relatie bestond tussen de glucose afhankelijke behoefte en de totale behoefte, terwijl die relatie niet aanwezig was bij verhoogde insulinetoevoer. Dit wijst op een afnemende van het massaffect bij verhoogde insulinespiegels. De oorzaak kan gezocht worden in het manifest worden van een "rate limiting step" ergens in de keten van de glucoseverwerking (manifest worden van een post-receptordefect<sup>113</sup>). In deze zienswijze is in de beschreven situatie de regulerende werking van het transport van glucose over de celmembraan niet meer de "rate limiting step"<sup>90</sup>. Van de patiënten die een tweede experiment ondergingen, had één in beide gevallen dezelfde mate van glucose afhankelijkheid van de glucoseverwerking, de andere patiënt was de ene keer glucose afhankelijk en de andere keer glucose onafhankelijk. In beide patiënten was het verdelingsvolume van glucose het grootste in het experiment waarbij het glucoseverbruik de grootste omvang had.

## 6. KLINISCH RELEVANTE CONCLUSIES:

1. Hyperinsulinemie lijkt de belangrijkste oorzaak van een glucose *onafhankelijke* glucoseverwerking. Deze constatering is een pleidooi voor een behandeling van diabetes patiënten met de laagst mogelijke dosering insuline.

2. Het is waarschijnlijk dat er bij een aanzienlijk deel van de type I diabetes patiënten gedurende of na een maaltijd (tezamen met insulinetoediening) tijdelijk een onafhankelijkheid ontstaat van de glucoseopname voor de glucosespiegel. De stabiliserende werking van de glucosespiegel op de glucoseverwerking kan dan dus tijdelijk verdwijnen. De mate van glucose afhankelijkheid van de glucoseopname kan zodoende in de loop van de dag waarschijnlijk sterk variëren.

3. Autoregulatie van de glucosespiegel in het algemeen wordt in belangrijke mate bepaald door het perifere massaffect van glucose; er zijn ook nog belangrijke indirecte werkingen via hormonale mechanismen op het glucosemetabolisme van de lever.

4. Een vergelijkbare insulinedosering bij twee patiënten betekent niet dat de mate van glucose afhankelijkheid van de glucoseverwerking gelijk is: de reguleerbaarheid kan dus alleen al hierdoor aanzienlijk verschillen.

5. Het hoge percentage patiënten met een van glucose onafhankelijke glucoseverwerking bij de verhoogde insulinetoevoer wijst op een latent post-receptordefect in de glucoseverwerking dat snel en frequent manifest kan worden.



Hoofdstuk 10.

**BEPALINGSRESULTATEN VAN HET GLUCOSEVERDELINGS-  
VOLUME.**

Dit hoofdstuk is ingedeeld in:

1. Verdelingsvolume van glucose.

2. Correlatie van het verdelingsvolume van glucose met diverse parameters.
3. Discussie.

4. Klinisch relevante conclusies.

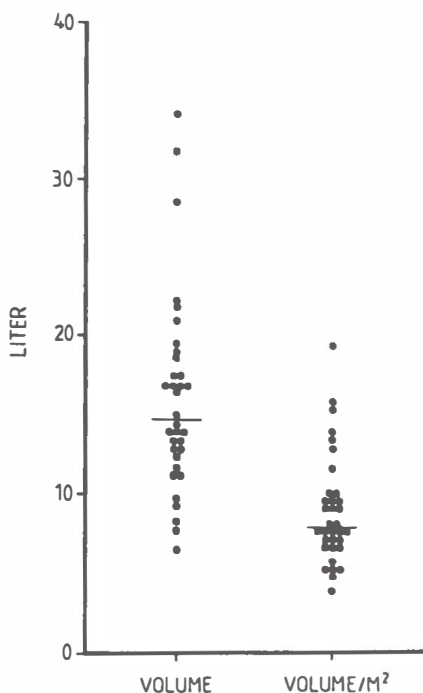
**1. VERDELINGSVOLUME VAN GLUCOSE.**

Het verdelingsvolume van glucose werd berekend op punt 3 met behulp van de glucosetoevoer in fase 2 en het verloop van de bloedglucosespiegels in de laatste 60 minuten van fase 2 en in fase 3 tot een niveau van 70 mg/dl. De waarden hiervan staan in tabel 10.1. Er is sprake van een niet normaal verdeelde "populatie". Een uitvoerige opsomming van individuele patiëntengegevens in relatie tot dit item staat vermeld in de appendix (tabel A.2.). In fig. 10.1. staan de volumes grafisch weergegeven.

**TABEL 10.1.:** Het verdelingsvolume van glucose opgegeven in absolute grootte (l) en per m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak (l/m<sup>2</sup>).

	<b>ABSOLUUT</b>	<b>PER M<sup>2</sup></b>
<b>MED.</b>	<b>14.5</b>	<b>7.9</b>
<b>GEM.</b>	<b>16.0</b>	<b>8.9</b>
<b>SD.</b>	<b>6.3</b>	<b>3.4</b>
<b>SEM.</b>	<b>1.08</b>	<b>0.59</b>
<b>RANGE.</b>	<b>6.5 / 34.1</b>	<b>3.8 / 19.3</b>





**Figuur 10.1.:** De gemeten verdelingsvolumes van glucose. Links absolute waarden (liter). Rechts waarden gecorrigeerd voor lichaamsoppervlak (liter/m<sup>2</sup>).

## 2. CORRELATIE VAN HET VERDELINGSVOLUME VAN GLUCOSE MET:

### 2.1. LAGE INSULINETOEVOER; VERHOOGDE INSULINETOEVOER.

Er was geen correlatie tussen de grootte van het verdelingsvolume van glucose per m<sup>2</sup> en de proefondervindelijk gevonden lage insulinetoevoer per m<sup>2</sup> in fase 0 en fase 1.

De variatiecoëfficiënt bij de gelijke (30 mE/m<sup>2</sup>/min) verhoogde insulinetoevoer van het verdelingsvolume per m<sup>2</sup> was 22%.

### 2.2. INSULINESPIEGELS.

Er werden geen correlaties gevonden tussen de verdelingsvolumes van glucose per m<sup>2</sup> en de insulinespiegels tijdens het experiment.

### 2.3. VRIJE VETZUURSPIEGELS.

Er was geen correlatie tussen de vrije vetzuurspiegels op punt 3 en de verdelingsvolumes van glucose per m<sup>2</sup> ( $r=0.22$ ).

## **2.4. GLUCOSEVERBRUIK.**

### **2.4.1. GLUCOSEBEHOEFTE IN FASE 0.**

Er bestond in fase 0 geen correlatie tussen de grootte van het verdelingsvolume van glucose per m<sup>2</sup> (berekend in fase 2 en 3) en de grootte van de glucosebehoefte per m<sup>2</sup> ( $r=0.13$ ).

### **2.4.2. GENORMEERDE GLUCOSEBEHOEFTE IN FASE 1.**

Er bestond geen verband tussen de grootte van het verdelingsvolume van glucose per m<sup>2</sup> en de grootte van de genormeerde glucosebehoefte per m<sup>2</sup> in fase 1 ( $r=0.27$ ).

### **2.4.3. GENORMEERDE GLUCOSEBEHOEFTE IN FASE 2.**

Er was wel een verband tussen de grootte van het verdelingsvolume van glucose per m<sup>2</sup> en de grootte van de genormeerde glucosebehoefte per m<sup>2</sup> in fase 2 ( $p<0.01$ ,  $r=0.51$ ).

### **2.4.4. GLUCOSEBEHOEFTE EN GLUCOSETOEVOER IN HET STABIELE DEEL VAN FASE 3.**

Er was geen relatie tussen de glucosebehoefte per m<sup>2</sup> in het stabiele deel van fase 3 en het verdelingsvolume van glucose per m<sup>2</sup> ( $r=0.20$ ).

Er was in het stabiele deel van fase 3 wel een correlatie tussen de grootte van het verdelingsvolume van glucose per m<sup>2</sup> en de grootte van de glucosetoevoer per m<sup>2</sup> ( $p<0.05$ ,  $r=0.39$ ).

## **2.5. ANDERE METABOLE PARAMETERS.**

Op de bloedafnamepunten waar dit zinvol zou kunnen zijn (dat wil zeggen nummer 1,2,3 en 5) werd getoetst of er een correlatie bestond tussen de tijdens het experiment bepaalde hormoonspiegels (en vrije vetzuurspiegels) en het verdelingsvolume van glucose. Correlaties werden niet gevonden.

## **2.6. GLUCOSE AFHANKELIJKE EN GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE.**

De parameters in de hiernavolgende geteste relaties van diverse variabelen met het verdelingsvolume van glucose zijn, waar nodig, steeds genormeerd.

### **2.6.1. GLUCOSE AFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE BIJ LAGE EN BIJ VERHOOGDE INSULINETOEVOER.**

Er was geen correlatie tussen de genormeerde glucose afhankelijke glucosebehoefte per m<sup>2</sup> bij de lage insulinetoevoer en het verdelingsvolume van glucose per m<sup>2</sup> ( $r=0.06$ ).

Gezien het grote aantal glucose afhankelijke glucosebehoeften bij de verhoogde insulinetoevoer dat gelijk was aan 0 mg/m<sup>2</sup>/min (dus geen normale verdeling door vele glucose onafhankelijke patiënten in die situatie) is het onderzoeken van een verband met het verdelingsvolume van glucose met behulp van de rangorde toets volgens Spearman niet zinvol.

Elders wordt besproken dat er een verschil is in verdelingsvolume van glucose per  $m^2$  tussen een patiëntengroep met een glucose afhankelijke glucosebehoefte bij de verhoogde insulinetoevoer per  $m^2$  gelijk aan  $0 \text{ mg}/m^2/\text{min}$  en een groep met een glucose afhankelijke glucosebehoefte per  $m^2$  ongelijk aan  $0 \text{ mg}/m^2/\text{min}$  ( $p < 0.01$ ).

#### **2.6.2. GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE BIJ LAGE EN BIJ VERHOOGDE INSULINETOEVOER.**

Er was geen correlatie tussen de glucose onafhankelijke glucosebehoefte per  $m^2$  bij de lage insulinetoevoer en het verdelingsvolume van glucose per  $m^2$  ( $r = 0.05$ ).

Er was wel een duidelijke correlatie aanwezig tussen de glucose onafhankelijke glucosebehoefte per  $m^2$  bij de verhoogde insulinetoevoer en het verdelingsvolume van glucose ( $p < 0.001$ ,  $r = -0.74$ ).

#### **2.7. LEEFTIJD EN DIABETESDUUR.**

Er was geen correlatie aanwezig tussen de leeftijd en het verdelingsvolume van glucose per  $m^2$  ( $r = -0.07$ ).

Er was evenmin een correlatie tussen diabetesduur en het verdelingsvolume van glucose per  $m^2$  ( $r = 0.04$ ).

#### **2.8. LICHAAMSGEWICHT EN LICHAAMSOPPERVLAK.**

Er was geen correlatie aanwezig tussen de grootte van het verdelingsvolume van glucose per  $m^2$  en het lichaamsgewicht ( $r = 0.32$ ).

Er was geen correlatie aanwezig tussen de grootte van het verdelingsvolume van glucose per  $m^2$  en het lichaamsoppervlak ( $r = -0.01$ ).

### **3. DISCUSSIE.**

De gevonden verdelingsvolumes van glucose bevinden zich, uitgedrukt als percentage van het lichaamsgewicht, in een gebied zoals dat ook in de literatuur (zie ook Hoofdstuk 1) wordt gevonden (gem. 24%, med. 22%). Verder is de betrekkelijk lage s.e.m. ( $0.59 \text{ l}/m^2$ ) een bevestiging voor de juistheid van het gemiddelde. Opvallend is echter de grote range met een asymmetrische (niet normale) verdeling. Er zijn sterke argumenten om aan te nemen dat de asymmetrische verdeling van de meetgegevens niet op toeval berust. Indien namelijk bij hogere insulinespiegels het glucosetransport over de celmembraan niet meer de "rate limiting step" in de glucoseverwerking zou zijn<sup>90</sup> (maar een andere stap in de glucoseverwerkingsketen), dan is het mogelijk dat er een toeneming plaats heeft van vrije intracellulaire glucose en kan een deel van het anatomische intracellulaire volume deelachtig worden aan het functionele verdelingsvolume van glucose. Het is duidelijk dat in dat geval de glucosevolumes te onderscheiden zijn in twee populaties: die met een "rate limiting" glucosetransport over de celmembraan en die zonder. Hiervoor pleit ook sterk de bevinding dat een groter verdelingsvolume van glucose samengaat met een grotere mate van glucose onafhankelijkheid.

Er zijn geen aanwijzingen voor dat de insulinetoevoer of de insulinespiegel in directe zin invloed hebben op het verdelingsvolume van glucose. Op indirecte manier, dat wil zeggen via effecten op de glucoseverwerking, is dat inmiddels wel aannemelijk geworden. Zo bleek er een relatie aanwezig tussen de genormeerde glucosebehoefte in fase 2 (verhoogde insulinetoevoer) en het verdelingsvolume van glucose. De betekenis hiervan is met het volgende voorbeeld verder te verduidelijken. Indien twee patiënten een vergelijkbaar post-receptordefect maar een ongelijke insulinegevoeligheid hebben, zal de persoon met de grootste insulinegevoeligheid (door een verhoogd glucosetransport over de celmembraan) het eerste een verandering van de "rate limiting step" (aanvankelijk nog het transport over de celmembraan) in het glucosetransport te zien geven: het post receptordefect wordt nu manifest (en "rate limiting"). Dit zou zich kunnen uiten in een toeneming van glucoseconcentratie ná de stap van transport over de celmembraan. Dit mechanisme zou zo kunnen leiden tot een groter verdelingsvolume van glucose. Met andere woorden: bij hogere insulinegevoeligheid is de kans dat een post-receptordefect manifest wordt, zich uitend in een vergroot verdelingsvolume, het hoogste. Deze relatie tussen verdelingsvolume en insulinegevoeligheid werd echter niet terug gevonden als correlatie tussen verdelingsvolume en de in fase 0 benodigde insulinetoevoer. Wel bestond er een verband tussen het verdelingsvolume en de glucosetoevoer in het stabiele deel van de hypoglycemische fase (fase 3s). Er was geen relatie tussen de bereikte insulinespiegels en het volume. Dit onderstreept nog eens dat niet de insulinespiegel op zich, doch het effect daarvan, de kans op het manifest worden van een post-receptordefect bepaalt.

Hoewel de mate van suppressie van vrije vetzuren een graadmeter is voor het insuline-effect, werd er geen relatie gevonden tussen de vrije vetzuurspiegels bij de verhoogde insulinetoevoer en het verdelingsvolume. Enerzijds kan dit worden uitgelegd als een argument tegen de eerder genoemde hypothese, maar anderzijds is het aannemelijker dat de verklaring gezocht moet worden in de al bijna volledige suppressie van de vrije vetzuren bij deze insulinetoevoer. Daardoor zou men een eventueel wel aanwezige relatie kunnen missen omdat één "variabele" vrijwel niet meer varieert.

Aangezien van vrijwel alle bij de contraregulatie betrokken hormonen bekend is dat ze in meerdere of mindere mate "insulineresistentie" kunnen veroorzaken<sup>332</sup> (deels op basis van een post-receptordefect), was het logisch de mogelijkheid van een relatie tussen de gemeten hormoonspiegels en het verdelingsvolume van glucose te onderzoeken. Deze theoretisch denkbare relaties werden niet gevonden. Dit kan het gevolg zijn geweest van een onjuiste hypothese. Het is waarschijnlijker dat eventuele geringe effecten van de contraregulerende hormonen verloren gaan in de meer dominante indirecte effecten van insuline en glucose op het verdelingsvolume.

Het verminderen van de glucose afhankelijkheid van de glucosebehoefte kan duiden op een manifest worden van een post-receptordefect. Hieraan kan een toeneming van vrije intracellulaire glucose inherent zijn<sup>35</sup>. Dit kan weer aan een toeneming van het verdelingsvolume van glucose gekoppeld zijn. Het is echter in deze gedachtengang onlogisch om een (negatieve) lineaire correlatie te veronderstellen tussen het verdelingsvolume van glucose en de glucose afhankelijke glucosebehoefte, omdat het manifest worden van een post-receptordefect (lees: het glucose onafhankelijk worden van de glucosebehoefte, dus een begin van vergroting van het verdelingsvolume) een abrupt (en niet een continu) fenomeen is. De glucose afhankelijke glucosebehoefte is gelijk

aan nul geworden. Aangezien dit fenomeen ten tijde van de verhoogde insulinetoevoer bij 57% van de onderzochte populatie optrad, is het berekenen van een correlatie niet zinvol, omdat de verdeling van één der te testen parameters sterk asymmetrisch is (vele waarden gelijk aan nul). Het blijkt echter dat bij een tweedeling in een groep patiënten mét en een groep zonder glucose afhankelijkheid van de glucosebehoefte er een significant verschil is in het glucoseverdelingsvolume. Het verdelingsvolume is het grootste in de groep die van de glucosespiegel onafhankelijk is geworden. Zoals te verwachten was, bleek er wel een duidelijk positieve relatie te bestaan tussen het verdelingsvolume van glucose en de glucose onafhankelijke glucosebehoefte.

Er zijn geen duidelijke argumenten om een verband te veronderstellen tussen het verdelingsvolume van glucose en leeftijd of diabetesduur; dit verband werd ook niet gevonden. Dat er geen verband aantoonbaar was tussen het op lichaamsoppervlak genormeerde verdelingsvolume van glucose en het lichaamsgewicht of het oppervlak geeft aan dat een eventueel gering overgewicht in dit verband geen overheersende rol speelt. Er waren geen verbanden tussen het verdelingsvolume en de graad van retinopathie of de kwaliteit van de diabetesregulatie.

#### 4. KLINISCH RELEVANTE CONCLUSIES:

1. De kans om een toegenomen verdelingsvolume van glucose aan te treffen is het grootste bij een relatief verhoogd membraantransport van glucose ten opzichte van de post-receptorverwerking van glucose. Dit betreft dus patiënten die een grote mate van insulinegevoeligheid van het membraantransport paren aan een relatief lage cellulaire glucoseverwerking. Er werd ook een relatie tussen het insuline-effect en de omvang van het glucoseverdelingsvolume vastgesteld.

2. Een vergroot verdelingsvolume van glucose moet samengaan met een toegenomen hoeveelheid vrije intracellulaire glucose. Het is aannemelijk dat een verhoogde hoeveelheid vrije intracellulaire glucose leidt tot een toegenomen glycosylering van bijvoorbeeld cel eiwitten. Er is dus ook een relatie te verwachten met diabetische complicaties. Er zijn geen belangrijke relaties tussen het glucoseverdelingsvolume en diabetesduur, leeftijd of een in geringe mate variërend lichaamsgewicht.

3. Het in alle experimentele omstandigheden aannemen van een vast glucoseverdelingsvolume (per kg of per m<sup>2</sup>) kan leiden tot foutieve conclusies met betrekking tot het glucosemetabolisme in een niet-evenwichtstoestand. De grootte van de totale lichaams-glucoseopname wordt bepaald door glucoseoxidatie en glucoseopslag, maar kan dus ook worden beïnvloed door expansie van het glucoseverdelingsvolume.

## INDELING IN GROEPEN.

Dit hoofdstuk is ingedeeld in:

1. Inleiding.
2. Leeftijd en diabetesduur.
3. Insulinespiegels en insulinetoevoer.
4. Verdelingsvolume van glucose.
5. (Genormeerde) glucosebehoefte.
6. Verschillen betreffende soorten van glucosebehoefte (glucose afhankelijk en glucose onafhankelijk) onder invloed van verschillende insulinetoevoer binnen één groep.
7. Verschillen in hormoonspiegels.
8. Verschillen in vrije vetzuurspiegels.
9. Discussie.
10. Klinisch relevante conclusies.

### 1. INLEIDING.

Op grond van de verschillende karakteristieken betreffende de glucose afhankelijke glucosebehoefte bij de verhoogde insulinetoevoer werden de patiënten ingedeeld in 3 groepen. Er werd allereerst een scheiding gemaakt in twee hoofdgroepen (A en B). Hoofdgroep A werd vervolgens nog weer verder onderverdeeld in 2 subgroepen (A<sub>1</sub> en A<sub>2</sub>).

**A.** Een groep die glucose **afhankelijk was én bleef** gedurende het gehele experiment, dus zowel bij de lage als bij de verhoogde insulinetoevoer (**GROEP 1, GROEP 2**, zie hieronder).

Deze onder A. genoemde groep werd, ten einde een nog meer specifieke indeling te verkrijgen, gesplitst in twee subgroepen:

**A1.** Een groep met **aantoonbare glucose onafhankelijke glucoseproductie** bij de verhoogde insulinetoevoer (dus een negatieve glucose onafhankelijke glucosebehoefte) (**GROEP 1**). Bij deze groep kan er zowel sprake zijn van glucose onafhankelijke glucoseproductie als van glucose onafhankelijke glucosebehoefte, maar het netto-effect van beide leidde tot **aantoonbare glucose onafhankelijke glucoseproductie**.

**A2.** Een groep met een **positieve glucose onafhankelijke glucosebehoefte** bij de verhoogde insulinetoevoer (**GROEP 2**). Bij deze groep kan er dus zowel sprake zijn van glucose onafhankelijke glucoseproductie (dus negatieve glucose onafhankelijke glucosebehoefte) als van positieve glucose onafhankelijke glucosebehoefte, maar het netto-effect van beiden leidde tot **aantoonbare glucose onafhankelijke glucosebehoefte**.

**B.** Een groep die bij het begin van het experiment glucose **afhankelijk** was (dus gedurende de lage insulinetoevoer), doch die bij de verhoogde insulinetoevoer glucose **onafhankelijk** werd (**GROEP 3**, zie hieronder).

**Zo werden de definitieve groepen dus (zie ook fig. 11.1.):**

**GROEP 1:**

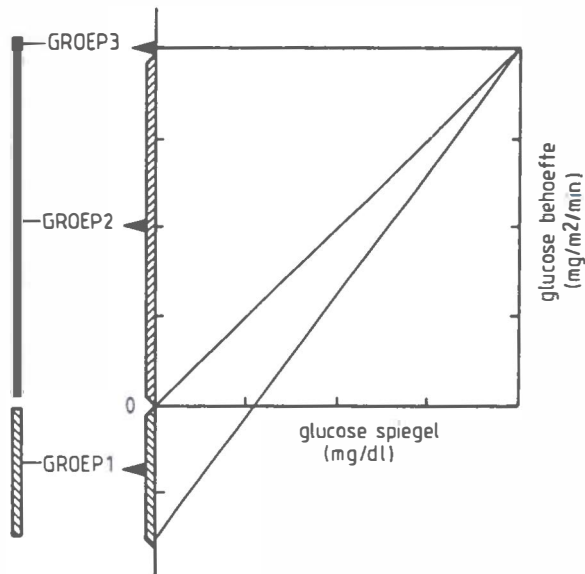
Glucose afhankelijke glucosebehoefte bij de lage en de verhoogde insulinetoevoer aanwezig. Glucose onafhankelijke glucosebehoefte is bij de verhoogde insulinetoevoer **NEGATIEF**, dat wil zeggen dat er aantoonbare glucose onafhankelijke glucoseproductie is.

**GROEP 2:**

Glucose afhankelijke glucosebehoefte bij de lage en de verhoogde insulinetoevoer aanwezig. Glucose onafhankelijke glucosebehoefte is bij de verhoogde insulinetoevoer **POSITIEF**, dat wil zeggen dat de aanwezigheid van glucose onafhankelijke productie niet is uitgesloten doch dat deze niet meer kan worden aangetoond.

**GROEP 3:**

Glucose afhankelijke glucosebehoefte is bij de lage insulinetoevoer aanwezig en bij de verhoogde insulinetoevoer geheel verdwenen.



**Figuur 11.1.:** Schematische weergave van de indeling in de 3 groepen die verschillen in de mate van glucose (on)afhankelijkheid bij verhoogde insulinetoevoer (zie tekst).



Van de 35 experimenten konden er 34 worden geklassificeerd in de aangegeven groepen. Door (tijdelijk) onbetrouwbare glucosemetingen was één experiment hiervoor niet bruikbaar. In groep 1 vielen 8, in groep 2 11 en in groep 3 15 patiënten. In het navolgende zal de samenhang van diverse parameters met de groepsindeling worden nagegaan.

**2. LEEFTIJD EN DIABETESDUUR.**

Er waren tussen de groepen geen verschillen in leeftijd en diabetesduur.

**3. INSULINESPIEGELS EN INSULINETOEVOER.**

Op punt 1 noch op punt 2 en 3 waren er verschillen tussen de groepen wat de insuline-spiegels betreft. Ook op andere punten waren er overigens geen verschillen.

Met betrekking tot de lage insulinetoevoer verschilden de groepen niet van elkaar. De waarden staan in tabel 11.1.

**TABEL 11.1.:Vergelijking van de lage insulinetoevoer (mE/m<sup>2</sup>/min.) tussen de groepen.**

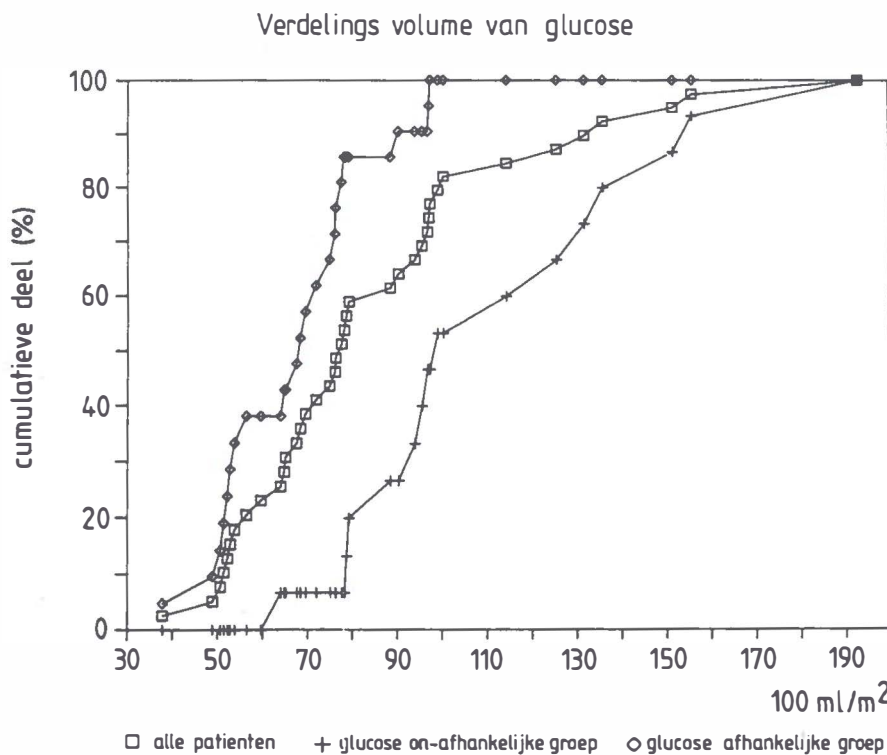
	GROEP 1	GROEP 2	GROEP 3
MED.	9	11	12
GEM.	10	11	12
SD.	5	5	7
SEM.	2	1	2
RANGE.	4 / 22	3 / 21	4 / 30

**4. VERDELINGSVOLUME VAN GLUCOSE.**

Het verdelingsvolume per m<sup>2</sup> van groep 3 was groter dan van groep 1 (p<0.01) en van groep 2 (p<0.01). Er was geen verschil in het verdelingsvolume per m<sup>2</sup> tussen groep 1 en groep 2. De getallen zijn samengevat in tabel 11.2. Er was ook verschil in verdelingsvolume tussen de glucose onafhankelijke groep (groep 3) en de beide glucose afhankelijke groepen (groep 1 en groep 2) tezamen (p<0.01). De cumulatieve frequenties van de verdelingsvolumes van groep 3, groep 1 en 2 tezamen en van alle patiënten (ter vergelijking) staan in fig. 11.2. Het verdelingsvolume van de individuele patiënten in relatie tot diverse andere parameters staat in tabel A.2. (Appendix).

**TABEL 11.2.:**Vergelijking van het verdelingsvolume van glucose in de groepen. Waarden in l per m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak.

	GROEP 1	GROEP 2	GROEP 3
MED.	6.7	6.8	9.9
GEM.	6.7	6.8	11.4
SD.	1.4	1.8	3.5
SEM.	0.5	0.5	0.9
RANGE.	5.0 / 9.1	3.8 / 9.7	6.4 / 19.3



**Figuur 11.2.:** Cumulatieve frequentie van de verdelingsvolumes van glucose in de gehele populatie (midden), de glucose afhankelijke groepen 1 en 2 (links) en de glucose onafhankelijke groep 3 (rechts). Op X-as het volume in 100 ml/m<sup>2</sup>, op de Y-as het cumulatieve percentage van 0 (beneden) tot 100% (boven).

## 5. (GENORMEERDE) GLUCOSEBEHOEFTE.

De groepen verschilden niet van elkaar wat betreft de glucosebehoefte in fase 0 en genormeerde glucosebehoefte in fase 1.

Er was evenmin een verschil in genormeerde glucosebehoefte gedurende fase 2. In tabel 11.3. staan de mediane waarden.

**TABEL 11.3.:**De totale glucosebehoefte in de groepen in mg/m<sup>2</sup>/min (in fase 1 en 2 genormeerd op 150 mg/dl).

	GROEP 1	GROEP 2	GROEP 3
BEHOEFTE 0	0	1	0
BEHOEFTE 1	45	35	49
BEHOEFTE 2	166	127	152

### 5.1. GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE BIJ LAGE INSULINETOEVOER.

Er waren geen verschillen tussen de groepen met betrekking tot de glucose onafhankelijke glucosebehoefte bij de lage insulinetoevoer. De getallen zijn samengevat in tabel 11.4.

**TABEL 11.4.:**Vergelijking van de glucose onafhankelijke glucosebehoefte bij de lage insulinetoevoer in de groepen. Waarden in mg/m<sup>2</sup>/min.

	GROEP 1	GROEP 2	GROEP 3
MED.	-58	-36	-68
GEM.	-60	-46	-93
SD.	22	36	96
SEM.	8	10	26
RANGE.	-96 / -31	-128 / 24	-371 / 6

### 5.2. GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE BIJ VERHOOGDE INSULINETOEVOER.

De glucose onafhankelijke glucosebehoefte verschildte in groep 1, 2 en 3 op grond van de definities der groepen. De waarden staan vermeld in tabel 11.5.

**TABEL 11.5.:Vergelijking van de glucose onafhankelijke glucosebehoefte bij de verhoogde insulinetoevoer in de groepen. Waarden in mg/m<sup>2</sup>/min.**

	GROEP 1	GROEP 2	GROEP 3
MED.	-32	34	152
GEM.	-35	37	152
SD.	22	25	82
SEM.	8	7	21
RANGE.	-81 / -14	9 / 96	88 / 385

### 5.3.GENORMEERDE GLUCOSE AFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE BIJ LAGE INSULINETOEVOER.

Er waren geen verschillen tussen de groepen met betrekking tot de glucose afhankelijke glucosebehoefte bij de lage insulinetoevoer. De waarden staan vermeld in tabel 11.6.

**TABEL 11.6.:Vergelijking van de glucose afhankelijke glucosebehoefte bij de lage insulinetoevoer bij 150 mg/dl in de groepen. Waarden in mg/m<sup>2</sup>/min.**

	GROEP 1	GROEP 2	GROEP 3
MED.	99	95	135
GEM.	104	91	145
SD.	33	53	85
SEM.	12	15	23
RANGE.	68 / 165	6 / 191	44 / 297

### 5.4.GENORMEERDE GLUCOSE AFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE BIJ VERHOOGDE INSULINETOEVOER.

Wat betreft de glucose afhankelijke glucosebehoefte bij de verhoogde insulinetoevoer verschilden groep 1 en groep 2 van elkaar ( $p < 0.01$ ). Er was op grond van de definities van de groepen ook verschil tussen groep 1 en groep 3 en tussen groep 2 en groep 3. De waarden staan vermeld in tabel 11.7.

**TABEL 11.7.:Vergelijking van de glucose afhankelijke glucosebehoefte bij de hoge insulinetoevoer bij 150 mg/dl in de groepen. Waarden in mg/m<sup>2</sup>/min.**

	GROEP 1	GROEP 2	GROEP 3
MED.	196	99	0
GEM.	198	89	0
SD.	75	28	0
SEM.	27	8	0
RANGE.	114 / 307	33 / 141	0

### 5.5. VERSCHILLEN TUSSEN DE GROEPEN MET BETREKKING TOT VERANDERING VAN GENORMEERDE GLUCOSE AFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE ONDER INVLOED VAN VERHOOGING VAN INSULINETOEVOER.

De verandering van de genormeerde glucose afhankelijke glucosebehoefte onder invloed van de verhoging van de insulinetoevoer was groter in groep 1 dan in groep 2 ( $p<0.05$ ). Ook groep 1 en groep 3 verschilden wat de verandering betreft van elkaar ( $p<0.01$ ) en hetzelfde was het geval met groep 2 en groep 3 ( $p<0.01$ ). De waarden staan in tabel 11.8.

**TABEL 11.8.:** De verandering van de genormeerde glucose afhankelijke glucosebehoefte tussen de groepen onder invloed van de verhoging van de insulinetoevoer. Waarden in  $\text{mg}/\text{m}^2/\text{min}$ .

	GROEP 1	GROEP 2	GROEP 3
MED.	171	17	-207
GEM.	181	-2	-188
SD.	174	98	240
SEM.	61	27	64
RANGE.	-78 / 439	-157 / 126	-525 / 499

### 5.6. VERSCHILLEN TUSSEN DE GROEPEN MET BETREKKING TOT VERANDERING VAN GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE ONDER INVLOED VAN VERHOOGING VAN INSULINETOEVOER.

Met betrekking tot de verandering van de glucose onafhankelijke glucosebehoefte onder invloed van de verandering van de verhoging van de insulinetoevoer verschilden groep 1 van groep 2 ( $p<0.01$ ). Ook groep 1 en groep 3 verschilden wat betreft de verandering van elkaar ( $p<0.01$ ) en hetzelfde was het geval met de verandering in groep 2 en groep 3 ( $p<0.01$ ). De waarden staan in tabel 11.9.

**TABEL 11.9.:** Vergelijking van de verandering van de glucose onafhankelijke glucosebehoefte onder invloed van de verandering van de insulinetoevoer in de groepen. Waarden in  $\text{mg}/\text{m}^2/\text{min}$ .

	GROEP 1	GROEP 2	GROEP 3
MED.	35	121	473
GEM.	44	150	483
SD.	62	85	202
SEM.	22	23	54
RANGE.	-31 / 140	18 / 301	208 / 843

## 6. VERSCHILLEN BETREFFENDE SOORTEN VAN GLUCOSEBEHOEFTE (GLUCOSE AFHANKELIJK EN GLUCOSE ONAFHANKELIJK) ONDER INVLOED VAN VERSCHILLENDE INSULINETOEVOER BINNEN ÉÉN GROEP.

### 6.1. GENORMEERDE GLUCOSE AFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE IN GROEP 1.

De genormeerde glucose afhankelijke glucosebehoefte per m<sup>2</sup> bij de lage insulinetoevoer in groep 1 vertoonde een trend naar verschil met de genormeerde glucose afhankelijke glucosebehoefte per m<sup>2</sup> bij de verhoogde insulinetoevoer (p<0.10). De waarden staan in tabel 11.10.

**TABEL 11.10.:**Genormeerde glucosebehoefte in groep 1 bij de lage en de verhoogde insulinetoevoer. Waarden in mg/m<sup>2</sup>/min.

	LAGE INSULINE TOEVOER	HOGES INSULINE TOEVOER
MED.	99	196
GEM.	104	198
SD.	33	75
SEM.	12	27
RANGE.	68 / 165	114 / 307

### 6.2. GENORMEERDE GLUCOSE AFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE IN GROEP 2.

De genormeerde glucose afhankelijke glucosebehoefte per m<sup>2</sup> bij de lage insulinetoevoer was in groep 2 niet verschillend van de genormeerde glucose afhankelijke glucosebehoefte bij de verhoogde insulinetoevoer. De waarden staan vermeld in tabel 11.11.

**TABEL 11.11.:**Genormeerde glucosebehoefte in groep 2 bij de lage en de verhoogde insulinetoevoer. Waarden in mg/m<sup>2</sup>/min.

	LAGE INSULINE TOEVOER	HOGES INSULINE TOEVOER
MED.	95	99
GEM.	91	89
SD.	53	28
SEM.	15	8
RANGE.	6 / 191	33 / 141

### 6.3. GENORMEERDE GLUCOSE AFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE IN GROEP 3.

De genormeerde glucose afhankelijke glucosebehoefte per m<sup>2</sup> bij de lage insulinetoevoer in groep 3 verschilde uiteraard van de genormeerde glucose afhankelijke glucosebehoefte bij de verhoogde insulinetoevoer. De waarden staan in tabel 11.12.

**TABEL 11.12.:**Genormeerde glucosebehoefte in groep 3 bij de lage en de verhoogde insulinetoevoer. Waarden in mg/m<sup>2</sup>/min.

	LAGE INSULINE TOEVOER	HOGESULINE TOEVOER
MED.	135	
GEM.	145	
SD.	85	
SEM.	23	
RANGE.	44 / 297	0 / 0

### 6.4. GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE IN GROEP 1.

De glucose onafhankelijke glucosebehoefte per m<sup>2</sup> bij de lage insulinetoevoer in groep 1 verschilde van de glucose onafhankelijke glucosebehoefte bij de verhoogde insulinetoevoer (p<0.05). De waarden staan in tabel 11.13.

**TABEL 11.13.:**Glucose onafhankelijke glucosebehoefte in groep 1. Waarden in mg/m<sup>2</sup>/min.

	LAGE INSULINE TOEVOER	HOGESULINE TOEVOER
MED.	-58	-32
GEM.	-60	-35
SD.	22	22
SEM.	8	8
RANGE.	-96 / -31	-81 / -14

### 6.5. GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE IN GROEP 2.

De glucose onafhankelijke glucosebehoefte per m<sup>2</sup> bij de lage insulinetoevoer in groep 2 verschilde van de glucose onafhankelijke glucosebehoefte bij de verhoogde insulinetoevoer (p<0.01). De waarden staan in tabel 11.14.



**TABEL 11.14.:Glucose onafhankelijke glucosebehoefte in groep 2. Waarden in mg/m<sup>2</sup>/min.**

	LAGE INSULINE TOEVOER	HOGES INSULINE TOEVOER
MED.	-36	34
GEM.	-46	37
SD.	36	25
SEM.	10	7
RANGE.	-128 / 24	9 / 96

**6.6. GLUCOSE ONAFHANKELIJKE GLUCOSEBEHOEFTE IN GROEP 3.**

De glucose onafhankelijke glucosebehoefte per m<sup>2</sup> bij de lage insulinetoevoer in groep 3 verschilde van de glucose onafhankelijke glucosebehoefte bij de verhoogde insulinetoevoer (p<0.01). De waarden staan in tabel 11.15.

**TABEL 11.15.:Glucose onafhankelijke glucosebehoefte in groep 3. Waarden in mg/m<sup>2</sup>/min.**

	LAGE INSULINE TOEVOER	HOGES INSULINE TOEVOER
MED.	-68	152
GEM.	-93	152
SD.	96	82
SEM.	26	21
RANGE.	-371 / 6	88 / 385

**7. VERSCHILLEN IN HORMOONSPIEGELS.**

Op geen van de relevante punten (1,2,3 en 7) werd verschil gevonden in de groepen tussen de spiegels van respectievelijk adrenaline, noradrenaline, glucagon, groeihormoon of cortisol.

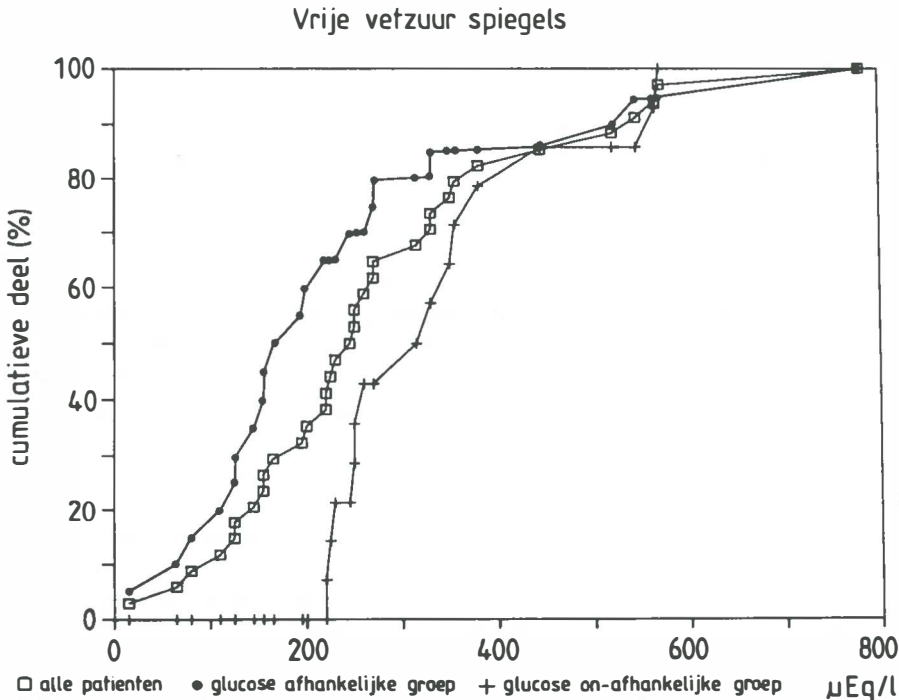
**8. VERSCHILLEN IN VRIJE VETZUURSPIEGELS.**

Ook hier werden verschillen tussen de groepen gevonden. Er waren geen verschillen op punt 1 en 2, maar op punt 3 was er in groep 3 een trend naar hogere vrije vetzuurspiegels dan in groep 1 (p<0.10). Op hetzelfde punt was er ook een trend naar verschil tussen groep 2 en groep 3 (p<0.10), waarbij groep 3 opnieuw de hoogste spiegels had. Groep 3 had ook op punt 3 hogere spiegels dan groep 1 en 2 tezamen (p<0.02). De verschillen tussen groep 3 (de patiënten met een volledig glucose onafhankelijke glucose-

behoefte bij de verhoogde insulinetoevoer) en groep 1 en 2 tezamen (de patiënten met een nog aanwezige glucose afhankelijke glucosebehoefte bij de verhoogde insulinetoevoer) staan weergegeven in figuur 11.3. Er was geen verschil in de groepen ten aanzien van de verandering van de vrije vetzuurspiegels onder invloed van de verhoging van de insulinetoevoer (verschil tussen punt 3 en punt 2). Er was ook een verschil op punt 5 tussen groep 3 en groep 1 en 2 ( $p<0.05$ ), waarbij wederom groep 3 de hoogste vrije vetzuurspiegels had. Ook indien punt 3 en punt 5 gemiddeld werden getoetst (om de kans op toevalsvariaties te verminderen) waren de waarden in groep 3 hoger dan in groep 1 en 2 (mediaan in groep 1 165, in groep 2 186 en in groep 3 305  $\mu\text{eq/l}$  ( $p<0.05$ )). Groep 1 en 2 verschilden (op deze manier getoetst) niet van elkaar. Op punt 6 was er een verschil tussen groep 1 en groep 3 (groep 3 weer hoger) ( $p<0.05$ ). De medianen van de spiegels staan in tabel 11.16.

**TABEL 11.16.:**De vrije vetzuurspiegels in de groepen. Vermeld zijn de medianen in  $\mu\text{eq/l}$ .

PUNT:	1	2	3	5	6	7	8
GR.1	640	600	170	160	200	415	280
GR.2	620	610	190	190	370	485	360
GR.3	800	690	305	300	445	665	465



**Figuur 11.3.:** Cumulatieve frequentie van de vrije vetzuurspiegels in de gehele populatie (mid-den), de glucose afhankelijke groepen 1 en 2 (links) en de glucose onafhankelijke groep 3 (rechts). Op de X-as de vrije vetzuurspiegel ( $\mu\text{eq/l}$ ), op de Y-as het cumu-latieve percentage van 0 (beneden) tot 100% (boven).

## 9. DISCUSSIE.

Uit de resultaten blijkt een relatie tussen glucose afhankelijkheid van de glucosebehoefte en het verdelingsvolume van glucose. Hoe groter de glucose onafhankelijkheid, hoe groter het verdelingsvolume; bij aanwezige glucose afhankelijkheid is het verdelingsvolume kleiner. Op grond van de aanzienlijke variatie die werd gevonden in de verdelingsvolumes van glucose bij de onderzochte patiënten lijkt de conclusie gerechtvaardigd dat het werken met een gefixeerd (en uit de literatuur overgenomen) glucoseverdelingsvolume op z'n minst riskante en bekritiseerbare aspecten heeft. Het is onwaarschijnlijk dat de opmerkelijke variatie in de grootte van de verdelingsvolumes het gevolg is van meetvariatie. Hoewel dit ten dele het geval zou kunnen zijn wijst de variatie eerder op de interindividuele verschillen in glucosespiegelverhoudingen tussen de diverse compartimenten van het verdelingsvolume en het referentieonderdeel (veneus bloed) daarvan, ook in die gevallen zonder manifest post-receptordefect. Het volume neemt voorts abnormaal hoge waarden aan, wanneer de glucose afhankelijkheid verloren gaat. Deze variabele (de glucose afhankelijkheid) wordt volledig onafhankelijk van het volume bepaald, zodat ook dit een aanwijzing is voor de validiteit van de meting. Dit wordt nog versterkt doordat het gevonden verband kan worden ingepast in bestaande theorieën betreffende mechanismen van glucoseverwerking<sup>113</sup>. Deze constatering leidt daarom ook logischerwijs tot verwerping van een aspect van de Steele equations<sup>77</sup>, te weten de veronderstelling dat het verdelingsvolume van glucose een vast en onveranderlijk volume per kg lichaamsgewicht is, dat niet aan verandering onderhevig zou kunnen zijn. De verklaring die vergroting van het verdelingsvolume van glucose en de afnemende glucose afhankelijkheid onder één noemer kan brengen is de al eerder genoemde mogelijkheid van het manifest worden van een post-receptordefect (meetbaar worden van een "rate limiting step" in de glucoseverwerking). Dit fenomeen zou kunnen leiden tot vergroting van de hoeveelheid vrije intracellulaire glucose die meegemeten wordt als zijnde aanwezig in het glucoseverdelingsvolume<sup>35</sup>.

De verschillen die tussen "de groepen" (1,2 en 3) (zie daar) met betrekking tot hun glucose (on)afhankelijkheid aanwezig zijn moeten wel het gevolg zijn van een verhoogde insulinespiegel, aangezien ze niet aanwezig zijn bij de (individueel aangepaste) lage insulinetoevoer. De groepen verschilden niet in totale glucosebehoefte, met andere woorden, de gevonden verschillen berusten dus op een afwijkende onderverdeling van de totale glucosebehoefte (in glucose afhankelijke en glucose onafhankelijke glucosebehoefte).

Het is van wezenlijk belang dat de glucose afhankelijke en de glucose onafhankelijke glucosebehoefte in de groepen bij de lage insulinetoevoer niet verschillen. Bij de verhoogde insulinetoevoer waren er dus wel duidelijke verschillen aanwezig.

Er waren tussen de groepen per definitie geen verschillen in insulinetoevoer (per m<sup>2</sup> gelijk), maar ook waren er geen verschillen in gemeten insulinespiegels. De geconstateerde andere verschillen tussen de groepen berusten dus op een ongelijk metabool effect van insuline op het glucoseverwerkingsstelsel.

Ook de verschillen tussen de groepen met betrekking tot de vrije vetzuurspiegels vormen een additioneel argument dat de verschillen tussen de groepen berusten op ongelijke metabole effecten bij gelijke insulinetoevoer (of spiegels). Zo bleek ook dat de groep die het meest glucose onafhankelijk was de hoogste vrije vetzuurspiegels had.

Dit duidt óf wel op een geringere mate van suppressie van de lipolyse óf wel op een verminderde vrije vetzuuresterificatie. Aangezien geen vrije vetzuren-turnover werd gemeten, valt een verder onderscheid niet te maken. Er kan echter in dit verband toch wel zinvol worden gespeculeerd over een samengaan van beperkingen in de intracellulaire glucoseverwerking (vergroot verdelingsvolume van glucose) en beperkingen in de intracellulaire verwerking van vrije vetzuren. Het is bijvoorbeeld ook bekend dat bij "insulineresistentie" verhoogde spiegels kunnen worden gevonden van vrije vetzuren en van aminozuren<sup>219,221</sup> (hoewel oorzaak en gevolg hier soms moeilijk zijn te scheiden).

De belangrijkste veranderingen die de glucose afhankelijke en de glucose onafhankelijke glucosebehoefte ondergaan in de diverse groepen (1,2 en 3) onder invloed van de overgang van lage naar verhoogde insulinetoevoer laten zich het gemakkelijkst samenvatten in tabel 11.17.

**TABEL 11.17.:**De mediane waarden van de glucose afhankelijke (A) en de glucose onafhankelijke (O) glucosebehoefte per m<sup>2</sup> in de groepen onder invloed van de verandering van insulinetoevoer. LI= Lage insulinetoevoer, HI= Hoge insulinetoevoer, A= Glucose afhankelijke glucosebehoefte, O= Glucose onafhankelijke glucosebehoefte. De aangegeven significante verschillen zijn die tussen lage en hoge insulinetoevoer.

GROEP	1		2		3	
	A	O	A	O	A	O
LI	99	-58	95	-36	95	-68
HI	196	-32	99	34	0	152
p =	0.10	0.05	n.s.	0.01	0.01	0.01

Uit tabel 11.17. blijkt dat er in groep 1 een trend is naar toeneming van de glucose afhankelijkheid bij verhoging van de insulinetoevoer (van 99 naar 196), in groep 2 maakt het niet uit (van 95 naar 99) en in groep 3 is er een duidelijke afnemning (van 95 naar 0 mg/m<sup>2</sup>/min). De glucose onafhankelijke glucosebehoefte vertoont een omgekeerd patroon onder invloed van insulineverhoging. Er is in groep 1 een afnemning van de glucose onafhankelijke productie (van -58 naar -32), in groep 2 is er een "omslag" van glucose onafhankelijke productie naar glucose onafhankelijke glucosebehoefte (van -36 naar +34) en in groep 3 doet hetzelfde zich voor, maar dan in nog veel sterkere mate (van -68 naar +152 mg/m<sup>2</sup>/min). Het lijkt er dus op dat men in het algemeen bij type I patiënten een metabool spectrum kan aantreffen dat varieert van zeer sterke glucose afhankelijkheid naar volledige glucose onafhankelijkheid. Aangezien alle patiënten bij de aanvang van het experiment (bij relatief lage insulinetoevoer) in meerdere of mindere mate glucose afhankelijk waren en een deel van hen onder invloed van de verhoging van de insulinetoevoer een toeneming kreeg van de glucose afhankelijkheid, kan men de hypothese opstellen dat verhoging van een lage insulinespiegel initieel leidt tot een toeneming van glucose afhankelijkheid, doch dat verdere verhoging van de in-

sulinespiegel de kans doet toenemen dat een post-receptordefect manifest wordt en de glucose onafhankelijkheid gaat overheersen.

## **10. KLINISCH RELEVANTE CONCLUSIES:**

1. Bij een onderverdeling van type I patiënten in subgroepen blijkt dat in de groep met een van glucose onafhankelijke glucoseverwerking de grootste verdelingsvolumes van glucose worden gevonden. Er lijkt bij type I diabetes patiënten een spectrum mogelijk van aan de ene kant een hoge mate van glucose afhankelijkheid tot aan de andere kant een onafhankelijkheid van de glucoseverwerking voor de glucosespiegel.
2. De bevindingen betreffende de vergrote verdelingsvolumina en de daaruit voortvloeiende theorie over toeneming van vrije intracellulaire glucose passen in de bestaande theorieën over een post-receptordefect bij diabetes mellitus.
3. Bij een maximale (constante, van de glucosespiegel onafhankelijke) glucoseverwerking zijn de vrije vetzuurspiegels verhoogd ten opzichte van een situatie met een niet maximale glucoseverwerking bij vergelijkbare insulinespiegels (door ofwel verminderde reësterificatie van vrije vetzuren dan wel door verminderde suppressie van lipolyse).

ASPECTEN VAN CONTRAREGULATIE.

Dit hoofdstuk is ingedeeld in:

1. Spiegels van hormonen en vrije vetzuren.

2. Verhouding tussen adrenaline en noradrenaline.

3. Paradoxe groeihormoonreacties.

4. Glucosespiegels als drempel voor stijging van contraregulerende hormonen.

5. Onderlinge verhouding van hormoon- en vrije vetzuurspiegels tijdens hypoglycemie.
6. Diabetesduur in relatie tot hormoon- en vrije vetzuurspiegels.

7. Hormoonspiegels en glucosetoevoer tijdens hypoglycemie.

8. Verbanden die samenhangen met contraregulatie en insulinegevoeligheid.

9. Discussie.

10. Klinisch relevante conclusies.

1. SPIEGELS VAN HORMONEN EN VRIJE VETZUREN.

In onderstaande zal het verloop van de hormonen en vrije vetzuren worden weergegeven. Het verloop zal meestal per hormoon worden vermeld; tevens zal worden getoetst of een eventuele stijging of daling van het hormoon significant is ten opzichte van de relevante spiegels die ervoor of erna gemeten zijn.

1.1.ADRENALINESPIEGELS.

In tabel 12.1. staan de adrenalinespiegels vermeld alsmede de erbij behorende statistiek. De grafische weergave staat in fig. 12.1. Gebruikmakend van variantie-analyse bleek dat er geen verschil was tussen de adrenalinespiegels op punt 1, 2 en 3.

Punt 3 was lager dan punt 5, punt 6, punt 7 en punt 8 ( $p<0.01$ ).

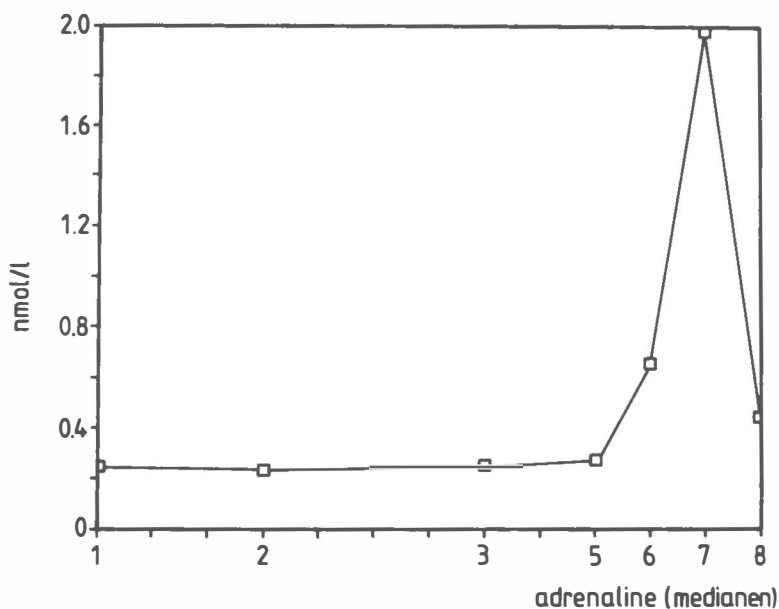
Punt 5 was lager dan punt 6, punt 7 en punt 8 ( $p<0.01$ ).

Punt 6 was lager dan punt 7 ( $p<0.01$ ).

Punt 7 was hoger dan punt 8 ( $p<0.01$ ).

TABEL 12.1.: De adrenalinespiegels (nmol/l).

PUNT	1	2	3	5	6	7	8
MED.	0.25	0.23	0.25	0.27	0.66	1.99	0.45
GEM.	0.32	0.23	0.26	0.35	1.48	2.61	0.52
SD.	0.21	0.13	0.13	0.29	1.69	1.96	0.31
SEM.	0.04	0.03	0.03	0.06	0.34	0.39	0.06
RANGE VAN	0.08	0.07	0.08	0.10	0.12	0.15	0.11
RANGE TOT	0.89	0.64	0.58	1.28	6.73	7.40	1.36



**Figuur 12.1:** Het verloop van de adrenelinespiegels.

## 1.2.NORADRENALINESPIEGELS.

In tabel 12.2. staan de noradrenelinespiegels vermeld alsmede de erbij behorende statistiek. De grafische weergave staat in fig. 12.2. Gebruikmakend van variantie-analyse bleek dat:

Punt 1 was hoger dan punt 2 ( $p < 0.05$ ) en punt 3 ( $p < 0.01$ ).

Punt 2 en punt 3 verschilden niet.

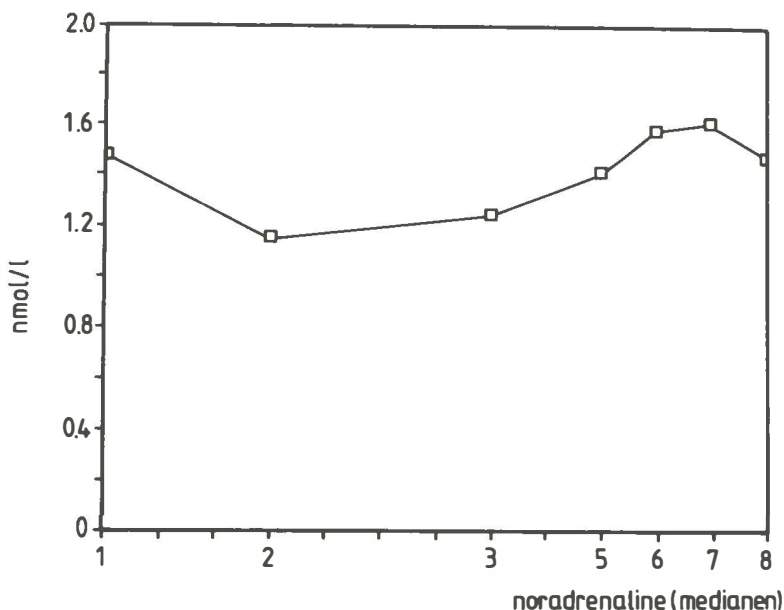
Punt 3 was lager dan punt 5, punt 6, punt 7 en punt 8 ( $p < 0.01$ ).

Punt 5 was lager dan punt 6 ( $p < 0.05$ ) en punt 7 ( $p < 0.01$ ).

**TABEL 12.2.:** De noradrenelinespiegels (nmol/l).

PUNT	1	2	3	5	6	7	8
MED.	1.48	1.15	1.24	1.41	1.58	1.61	1.47
GEM.	1.62	1.39	1.41	1.60	1.92	1.97	1.80
SD.	0.82	0.74	0.74	0.94	1.09	0.98	1.01
SEM.	0.16	0.15	0.15	0.19	0.22	0.20	0.20
RANGE VAN	0.67	0.70	0.63	0.56	0.82	0.64	0.94
RANGE TOT	4.30	3.90	3.45	4.98	5.06	4.62	4.39





**Figuur 12.2.:** Het verloop van de noradrenalinespiegels.

### 1.3. GLUCAGONSPIEGELS.

In tabel 12.3. staan de glucagonspiegels vermeld alsmede de erbij behorende statistiek. De grafische weergave staat in fig. 12.3. Gebruikmakend van variantie-analyse bleek dat:

Punt 1 was hoger dan punt 2 en punt 3 ( $p < 0.01$ ).

Punt 2 was hoger dan punt 3 ( $p < 0.01$ ).

Punt 3 was lager dan punt 5, punt 6, punt 7 en punt 8 ( $p < 0.01$ ).

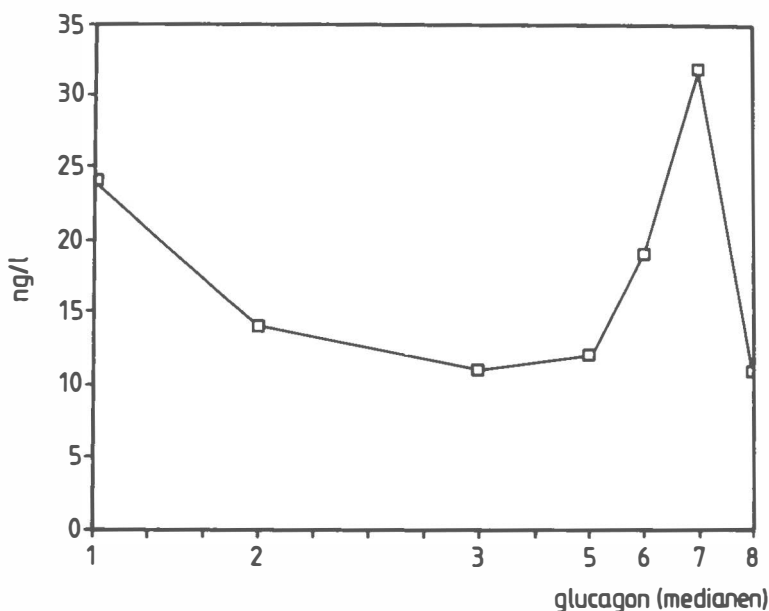
Punt 5 was lager dan punt 6 ( $p < 0.05$ ) en punt 7 ( $p < 0.01$ ).

Punt 6 was lager dan punt 7 ( $p < 0.01$ ).

Punt 8 was lager dan punt 6 ( $p < 0.05$ ) en punt 7 ( $p < 0.01$ ).

**TABEL 12.3.:** De glucagonspiegels (ng/l).

PUNT	1	2	3	5	6	7	8
<b>MED.</b>	<b>24</b>	<b>14</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>19</b>	<b>32</b>	<b>11</b>
<b>GEM.</b>	<b>28</b>	<b>14</b>	<b>11</b>	<b>14</b>	<b>27</b>	<b>44</b>	<b>14</b>
<b>SD.</b>	<b>13</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>9</b>	<b>24</b>	<b>35</b>	<b>9</b>
<b>SEM.</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>2</b>
<b>RANGE VAN</b>	<b>11</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>7</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>4</b>
<b>RANGE TOT</b>	<b>56</b>	<b>42</b>	<b>18</b>	<b>47</b>	<b>101</b>	<b>152</b>	<b>49</b>



**Figuur 12.3.:** Het verloop van de glucagonspiegels.

#### 1.4. CORTISOLSPIEGELS.

In tabel 12.4. staan de cortisolspiegels vermeld alsmede de erbij behorende statistiek. De grafische weergave staat in fig. 12.4. Gebruikmakend van variantie-analyse bleek dat:

Punt 1 was hoger dan punt 2 en punt 3 ( $p < 0.01$ ).

Punt 2 en punt 3 verschilden niet.

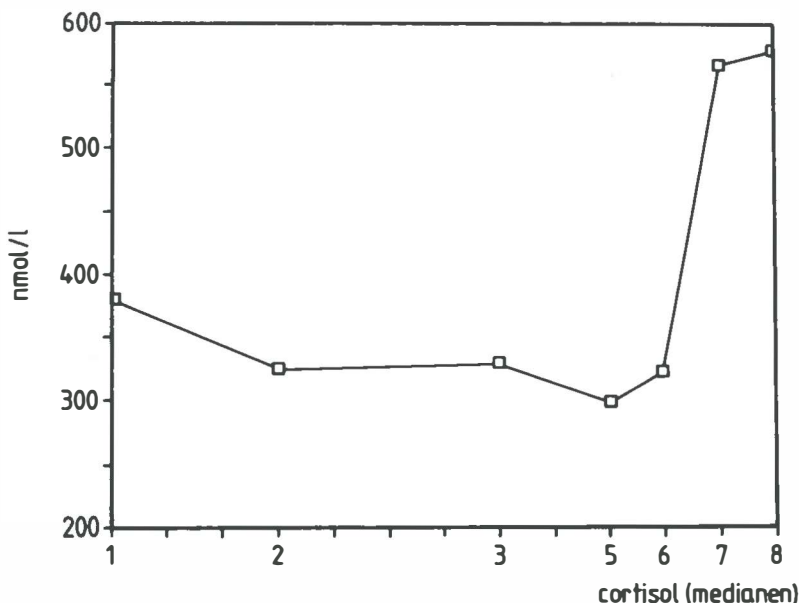
Punt 3 was lager dan punt 7 en punt 8 ( $p < 0.01$ ).

Punt 5 was lager dan punt 7 en punt 8 ( $p < 0.01$ ).

Punt 6 was lager dan punt 7 en punt 8 ( $p < 0.01$ ).

**TABEL 12.4.:** De cortisolspiegels (nmol/l).

PUNT	1	2	3	5	6	7	8
<b>MED.</b>	<b>380</b>	<b>325</b>	<b>330</b>	<b>300</b>	<b>323</b>	<b>568</b>	<b>580</b>
<b>GEM.</b>	<b>449</b>	<b>344</b>	<b>338</b>	<b>330</b>	<b>396</b>	<b>613</b>	<b>570</b>
<b>SD.</b>	<b>211</b>	<b>169</b>	<b>162</b>	<b>173</b>	<b>215</b>	<b>291</b>	<b>243</b>
<b>SEM.</b>	<b>39</b>	<b>31</b>	<b>30</b>	<b>32</b>	<b>39</b>	<b>53</b>	<b>44</b>
<b>RANGE VAN</b>	<b>210</b>	<b>90</b>	<b>145</b>	<b>130</b>	<b>100</b>	<b>75</b>	<b>65</b>
<b>RANGE TOT</b>	<b>1020</b>	<b>880</b>	<b>910</b>	<b>970</b>	<b>1020</b>	<b>1315</b>	<b>1020</b>



Figuur 12.4.: Het verloop van de cortisolspiegels.

## 1.5. GROEIHORMOONSPIEGELS.

In tabel 12.5. staan de groeihormoonspiegels vermeld alsmede de erbij behorende statistiek. De grafische weergave staat in fig. 12.5. In de tabel zijn alleen groeihormoonspiegels vermeld van de personen bij wie een "normale" groeihormoonreactie optrad tijdens de hypoglycemie ( $n=28$ ), dat wil zeggen een stijging of op z'n minst een gelijk blijven van de spiegels. Personen met een paradoxale daling van de groeihormoonspiegel werden niet in deze bewerking betrokken ( $n=7$ ). Een paradoxale reactie werd gedefinieerd als een continu doorgaande daling van groeihormoonspiegels tijdens de hypoglycemische fase (zie verder voor een uitvoeriger beschouwing). Gebruikmakend van variantie-analyse bleek dat:

Punt 2 was lager dan punt 3 ( $p<0.05$ ).

Er waren geen verschillen tussen resp. punt 1 en 3 alsmede tussen punt 1 en 2.

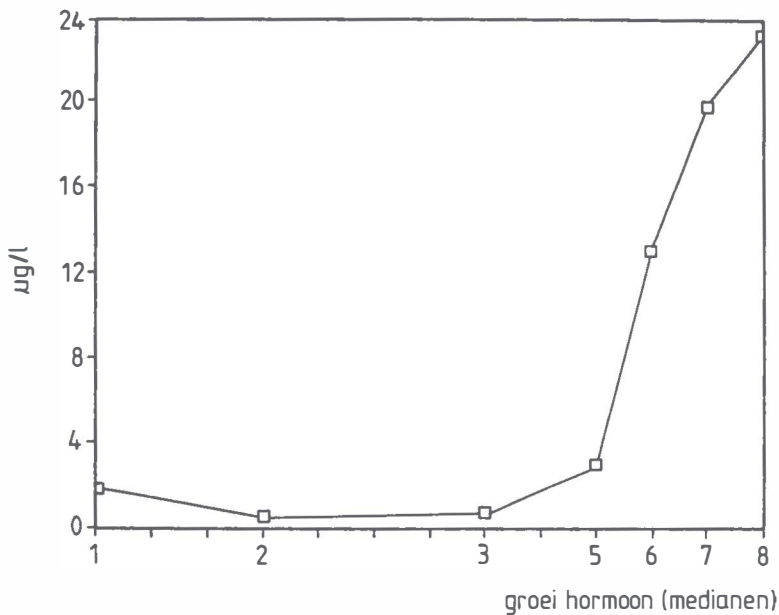
Punt 3 was lager dan punt 6, punt 7 en punt 8 ( $p<0.01$ ).

Punt 5 was lager dan punt 6, punt 7 ( $p<0.01$ ), en punt 8 ( $p<0.05$ ).

De groeihormoonspiegels van de patiënten die een paradoxale reactie vertoonden staan in tabel 12.6. vermeld. De grafische weergave staat in fig. 12.6.

**TABEL 12.5.:** De groeihormoonspiegels ( $\mu\text{g/l}$ ) bij patiënten met een normale reactie tijdens hypoglycemie ( $n=28$ ) (zie tekst).

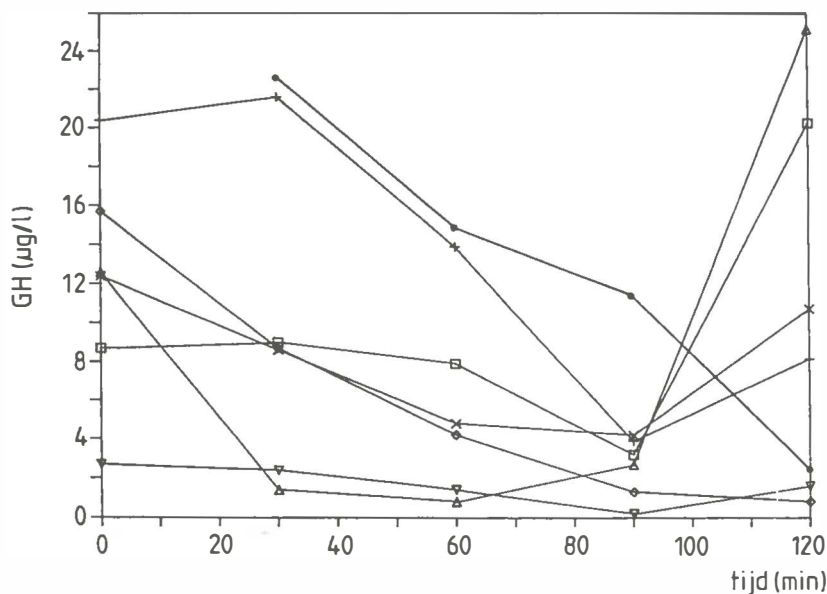
PUNT	1	2	3	5	6	7	8
MED.	1.8	0.6	0.8	3.0	13.1	19.8	23.2
GEM.	3.1	2.3	4.0	6.7	14.9	23.5	25.2
SD.	3.4	3.7	4.3	8.4	12.2	15.3	17.4
SEM.	0.7	0.7	0.8	1.7	2.4	3.1	3.5
RANGE VAN	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.7	0.7
RANGE TOT	14.5	14.8	15.5	28.5	39.1	56.8	68.5



**Figuur 12.5.:** Het verloop van de groeihormoonspiegels.

**TABEL 12.6.:** De groeihormoonspiegels ( $\mu\text{g/l}$ ) bij patiënten met een "paradoxe" reactie tijdens hypoglycemie ( $n=7$ ) (zie tekst).

PUNT	1	2	3	5	6	7	8
MED.	3.6	8.6	12.4	8.6	4.8	3.2	8.2
GEM.	4.0	6.6	10.4	10.9	6.8	3.8	10.0
SD.	3.4	5.2	7.0	9.1	5.6	3.6	9.5
SEM.	1.4	2.1	2.7	3.7	2.1	1.3	3.6
RANGE VAN	0.6	0.2	0.6	1.4	0.8	0.2	0.8
RANGE TOT	8.1	11.2	20.4	22.2	14.5	11.2	25.2



**Figuur 12.6.:** Het verloop van de groeihormoonspiegels bij de patiënten met een paradoxale reactie tijdens hypoglycemie (zie tekst).

## 1.6. VRIJE VETZUURSPIEGELS.

In tabel 12.7. staan de vrije vetzuurspiegels vermeld alsmede de erbij behorende statistiek. De grafische weergave staat in fig. 12.7. Gebruikmakend van variantie-analyse bleek dat:

Punt 1 was hoger dan punt 2 ( $p < 0.05$ ) en punt 3 ( $p < 0.01$ ).

Punt 2 was hoger dan punt 3 ( $p < 0.01$ ).

Punt 3 was lager dan punt 6, punt 7 en punt 8 ( $p < 0.01$ ).

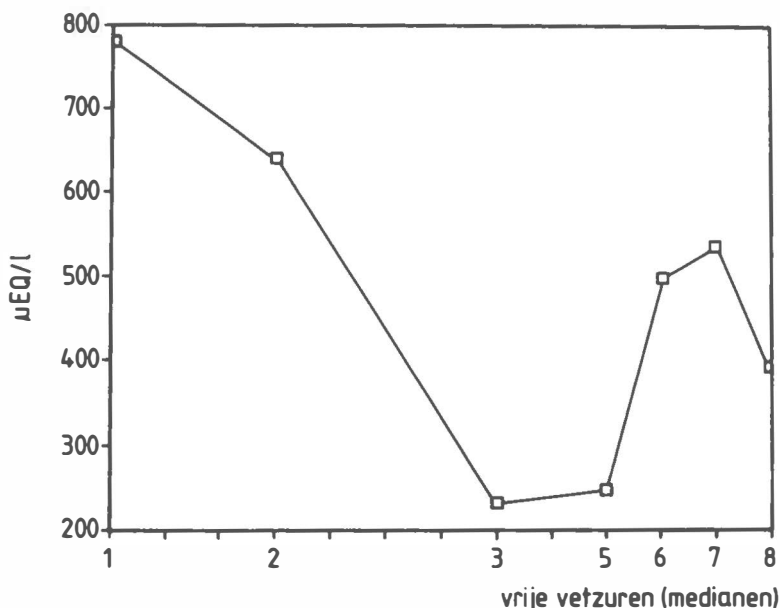
Punt 5 was lager dan punt 6 ( $p < 0.05$ ), punt 7 ( $p < 0.01$ ) en punt 8 ( $p < 0.05$ ).

Punt 6 was lager dan punt 7 ( $p < 0.01$ ).

Punt 7 was hoger dan punt 8 ( $p < 0.01$ ).

**TABEL 12.7.:** De vrije vetzuurspiegels ( $\mu\text{eq/l}$ ).

PUNT	1	2	3	5	6	7	8
MED.	780	640	235	250	500	540	395
GEM.	811	674	272	277	467	630	383
SD.	257	286	171	197	326	426	220
SEM.	57	60	38	44	73	95	49
RANGE VAN	370	260	15	15	15	15	80
RANGE TOT	1250	1370	720	840	1220	1740	950



Figuur 12.7.: Het verloop van de vrije vetzuurspiegels.

## 2. VERHOUDING TUSSEN ADRENALINE EN NORADRENALINE.

Onder invloed van hypoglycemie nemen beide catecholaminen toe, doch de toeneming van adrenaline (nmol/l) bleek aanmerkelijk sterker dan die van noradrenaline (nmol/l). Getest werd wanneer de verhouding tussen adrenaline en noradrenaline voor het eerst gedurende de proef significant van voorgaande verhoudingen (bepaald op de diverse punten) verschilde. Tevens werd getoetst of voornoemde verhouding op punt 8 (dus 30 min na het dieptepunt van de hypo) weer was afgenomen ten opzichte van de relevante verhoudingen op de andere voorgaande punten. De verhoudingen staan vermeld in tabel 12.8. De grafische weergave staat in fig. 12.8. Gebruikmakende van variantie-analyse bleek dat:

De verhouding op het meest hypoglycemische punt (7) groter was dan op alle niet hypoglycemische punten (1,2 en 3) ( $p < 0.001$ ).

De punten 1,2 en 3 verschilden onderling niet van elkaar.

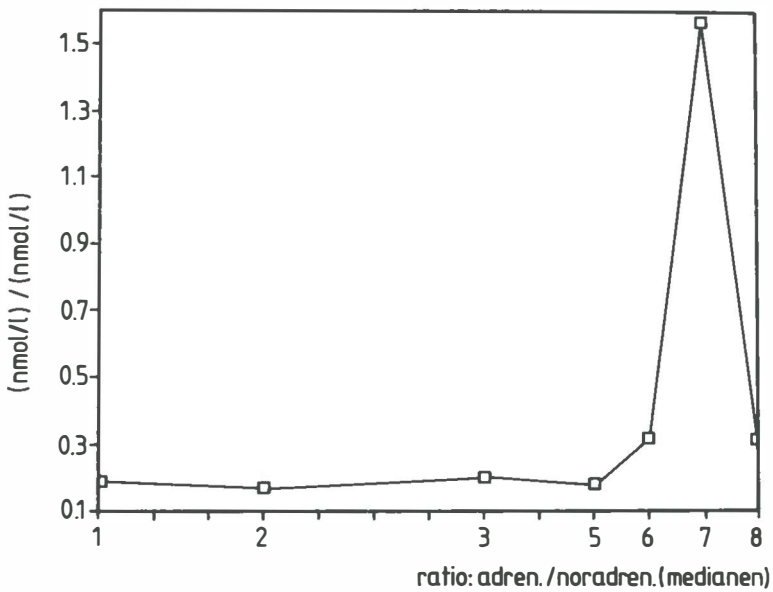
De verhouding op punt 3 was lager dan op punt 6, 7 en 8 ( $p < 0.01$ ).

De verhouding op punt 6 was lager dan op punt 7 ( $p < 0.01$ ).

De verhouding op punt 7 was hoger dan op punt 8 ( $p < 0.01$ ).

**TABEL 12.8.:** De verhouding adrenaline/noradrenaline op de diverse punten gedurende de proef.

PUNT	1	2	3	5	6	7	8
MED.	0.19	0.17	0.20	0.18	0.32	1.57	0.31
GEM.	0.22	0.19	0.26	0.25	0.97	1.45	0.36
SD.	0.13	0.13	0.24	0.20	1.08	1.01	0.24
SEM.	0.02	0.02	0.04	0.04	0.19	0.17	0.04
RANGE VAN	0.05	0.05	0.02	0.05	0.05	0.10	0.07
RANGE TOT	0.62	0.57	1.43	1.00	4.05	3.83	0.98



**Figuur 12.8.:** De adrenaline/noradrenaline verhouding gedurende de proef. Op de Y-as de verhouding, op de X-as de diverse monsterafnemepunten. De hypoglycemie begint na punt 3 en eindigt bij punt 7.

**3. PARADOXALE GROEIHORMOONREACTIES.**

In tegenstelling tot de verwachting bleek dat gedurende de hypoglycemische fase de groeihormoonspiegels niet bij alle patiënten stegen (of tenminste gelijk bleven). Bij diverse experimenten kwam tot uiting dat de groeihormoonspiegels soms een paradoxale daling vertoonden, ondanks de hypoglycemische toestand van de patiënten en in weerwil van een stijging van andere contraregulerende hormonen. Het volgende criterium werd bij de indeling van "normale" en paradoxale reacties aangehouden. Een groeihormoonstijging of daling tussen twee bloedafnamepunten van meer dan 20% werd als significant beschouwd. Er bleken 5 van de 35 patiënten te zijn die na het inzetten van



de hypoglycemie een daling vertoonden van het groeihormoon ondanks het ernstiger worden van de hypoglycemie. Verder hadden 2 patiënten een geringe stijging op het eerste (nog vrijwel niet hypoglycemische) punt in fase 3 en vertoonden daarna ondanks verder toenemen van de hypoglycemie ook een verdere daling van de groeihormoonspiegels. Alle 7 patiënten waren vrouwen. Er waren 2 patiënten die geen enkele reactie in de groeihormoonspiegel vertoonden gedurende de hypoglycemie. Het verloop van de spiegels staat weergegeven in fig. 12.6. Er waren geen verschillen met betrekking tot leeftijd, diabetesduur, glucoseverdelingsvolume, genormeerde glucosebehoefte bij de lage insulinetoevoer en andere hormoonspiegels in de groep met en de groep zonder paradoxale groeihormoon reactie. Er was een trend naar een lagere genormeerde glucosebehoefte per m<sup>2</sup> bij verhoogde insulinetoevoer in de groep met paradoxale groeihormoonreacties ten opzichte van de groep die dat niet had ( $p < 0.10$ ). Er was geen verschil in de glucosedrempel (zie voor uitleg over dit begrip paragraaf 4. van dit Hoofdstuk) voor groeihormoonstijging ten opzichte van de glucosedrempel voor groeihormoondaling tussen beide eerder genoemde groepen.

#### 4. GLUCOSESPIEGELS ALS DREMPEL VOOR STIJGING VAN CONTRAREGULERENDE HORMONEN.

Er werd van alle bij de contraregulatie betrokken hormonen in de hypoglycemische fase bepaald welke glucosespiegel als drempel fungeerde voor een stijging van het betrokken hormoon. Op grond van de spreiding in de uitslagen van de diverse bepalingen werden als een significante hormoonstijging beschouwd:

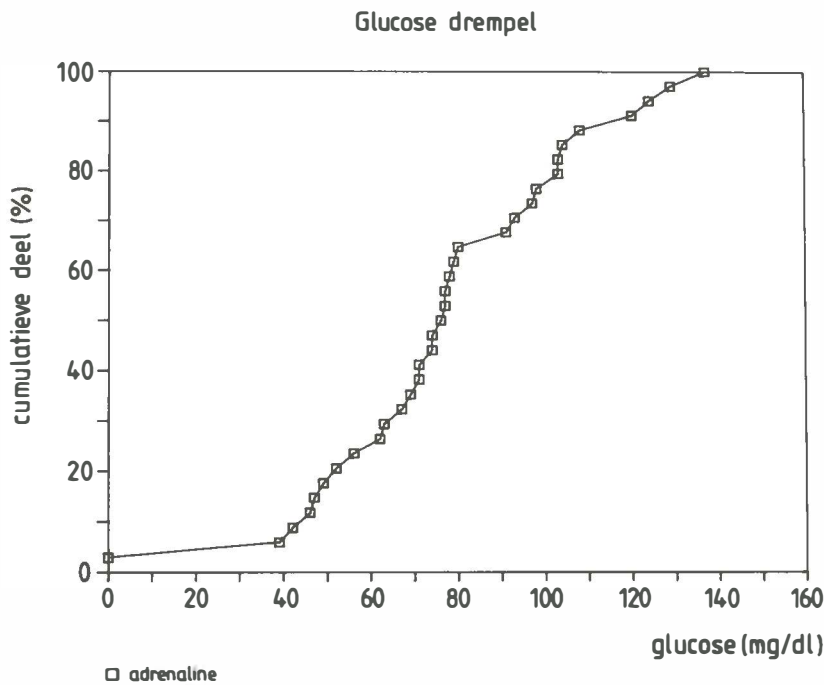
Adrenaline > 25%  
 Groeihorm. > 20%  
 Cortisol > 15%

Noradrenaline > 25%  
 Glucagon > 20%

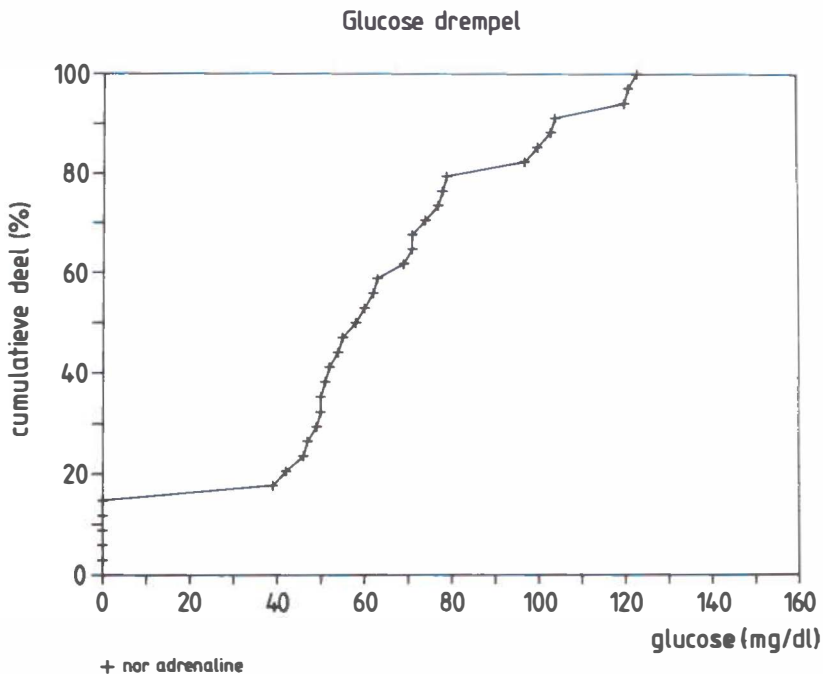
Bij de groeihormoonreacties werden alleen de patiënten in de statistische verwerking betrokken die een groeihormoonstijging vertoonden of op z'n minst gelijke spiegels hielden (geen reactie) onder invloed van de hypoglycemie. Indien er in het geheel geen hormonale reactie optrad bij de hypoglycemie, werd de glucosedrempel gescoord als 0 mg/dl. Indien dus in een range van waarnemingen één of meer drempels 0 mg/dl zijn, dan betekent dit dat de patiënt zelfs aan het einde van de hypoglycemische fase geen hormonale reactie vertoonde. Het op 0 mg/dl stellen van de drempel, indien er zelfs bij de laagste bloedglucosewaarde geen hormonale reactie optrad, in plaats van bijvoorbeeld het gemiddelde nemen van 0 mg/dl en de laagste bereikte bloedglucosewaarde heeft op de uitkomsten géén invloed, aangezien in de tabel medianen staan vermeld. De patiënten die een paradoxale daling van de groeihormoonspiegels vertoonden (zie terug) werden, althans in de bewerking van de groeihormoonresultaten, uitgesloten. De waarnemingen staan in tabel 12.9. De cumulatieve frequentie van glucosespiegels waarmee de hormonale reacties in gang kwamen staan in de figuren 12.9, 12.10, 12.11, 12.12 en 12.13.

**TABEL 12.9.:** Mediane glucosespiegels (mg/dl) die leiden tot afgifte van contraregulerende hormonen. Toetsing van de glucosespiegels waarbij hormoonstijging optreedt ten opzichte van elkaar.

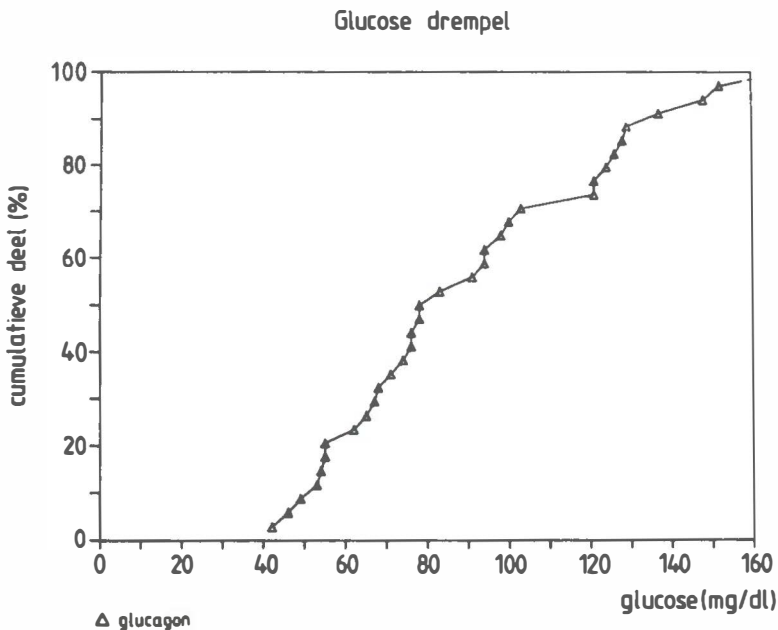
HORMOON	MEDIAAN	<u>ONGELIJK AAN</u>	
GLUCAGON	81	noradrenaline	(p<0.01)
		Groeihormoon	(p<0.01)
		Cortisol	(p<0.01)
ADRENALINE	77	noradrenaline	(p<0.05)
		Groeihormoon	(p<0.05)
		Cortisol	(p<0.05)
NORADRENALINE	59	glucagon	(p<0.01)
		adrenaline	(p<0.05)
GROEIHORMOON	59	glucagon	(p<0.01)
		adrenaline	(p<0.05)
CORTISOL	56	glucagon	(p<0.01)
		adrenaline	(p<0.05)



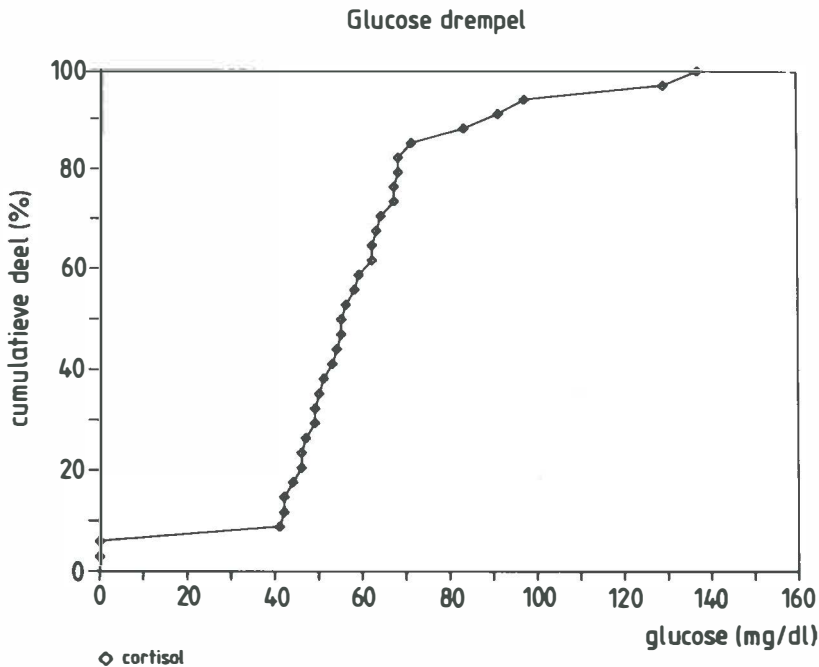
**Figuur 12.9.:** Cumulatieve frequentie van de glucosedrempels waarbij tijdens hypoglycemie de adrenalinespiegel voor het eerst stijgt.



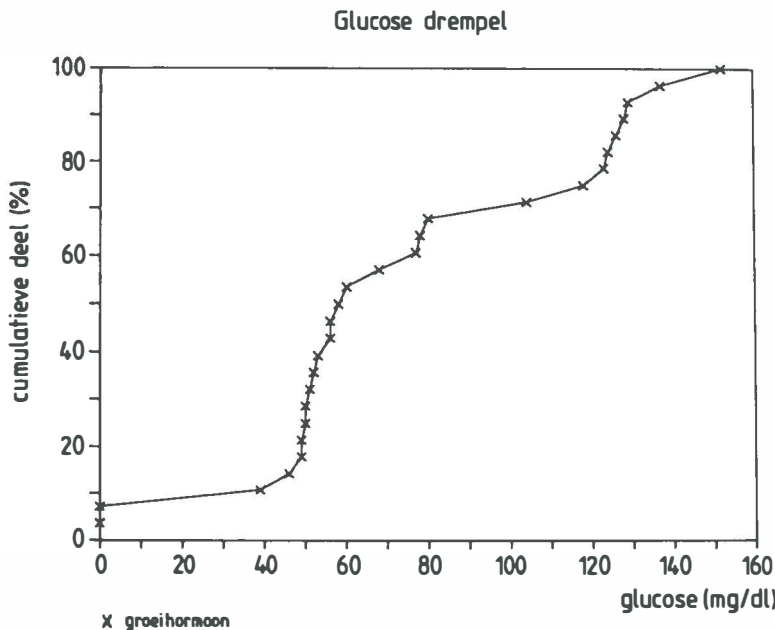
**Figuur 12.10.:** Cumulatieve frequentie van de glucosedrempels waarbij tijdens hypoglycemie de noradrenalinespiegel voor het eerst stijgt.



**Figuur 12.11.:** Cumulatieve frequentie van de glucosedrempels waarbij tijdens hypoglycemie de glucagonspiegel voor het eerst stijgt.



**Figuur 12.12.:** Cumulatieve frequentie van de glucosedrempels waarbij tijdens hypoglycemie de cortisolspiegel voor het eerst stijgt.



**Figuur 12.13.:** Cumulatieve frequentie van de glucosedrempels waarbij tijdens hypoglycemie de groeihormoonspiegel voor het eerst stijgt.

## **5. ONDERLINGE VERHOUDING VAN HORMOON- EN VRIJE VETZUURSPIEGELS TIJDENS HYPOGLYCEMIE.**

Hormoon- en vrije vetzuurspiegels werden op diverse punten bepaald om na te gaan of er een verband was tijdens (bijna) normoglycemie of dat een dergelijk verband zich tijdens hypoglycemie zou kunnen ontwikkelen.

Er was een verband tussen de spiegels van adrenaline en noradrenaline op punt 1 ( $p \leq 0.02$ ,  $r = 0.46$ ). Tevens was er een correlatie op punt 7 ( $p \leq 0.05$ ,  $r = 0.38$ ) en op punt 8 ( $p \leq 0.05$ ,  $r = 0.34$ ). Er was een correlatie tussen de spiegels van adrenaline en glucagon op punt 6 ( $p < 0.01$ ,  $r = 0.49$ ). Er bestond een correlatie tussen adrenaline en cortisol op punt 6 ( $p < 0.05$ ,  $r = 0.35$ ), op punt 7 ( $p < 0.10$ ,  $r = 0.29$ ) en op punt 8 ( $p < 0.01$ ,  $r = 0.45$ ). Er was een correlatie tussen adrenaline en groeihormoon op punt 6 ( $p < 0.02$ ,  $r = 0.44$ ). Er was een negatieve correlatie tussen adrenaline en vrije vetzuren op punt 2 ( $p < 0.05$ ,  $r = 0.36$ ). Er was een correlatie tussen groeihormoon en noradrenaline op punt 6 ( $p < 0.01$ ,  $r = 0.52$ ). Er was een correlatie tussen groeihormoon en vrije vetzuren op punt 3 ( $p < 0.05$ ,  $r = 0.35$ ). Er was een negatieve correlatie op punt 7 ( $p < 0.05$ ,  $r = -0.38$ ) en op punt 8 ( $p < 0.05$ ,  $r = -0.35$ ). Op punt 3 was er een correlatie aanwezig tussen de spiegels van groeihormoon en cortisol ( $p < 0.01$ ,  $r = 0.54$ ). Er was een negatieve correlatie tussen cortisol en glucagon op punt 3 ( $p < 0.05$ ,  $r = -0.30$ ). Er waren diverse correlaties tussen cortisol en vrije vetzuren. De correlatie was aanwezig op punt 1 ( $p < 0.01$ ,  $r = 0.48$ ), op punt 2 ( $p < 0.02$ ,  $r = 0.4$ ), op punt 3 ( $p < 0.05$ ,  $r = 0.30$ ), bijna op punt 5 ( $p < 0.10$ ,  $r = 0.33$ ), op punt 6 ( $p < 0.01$ ,  $r = 0.47$ ) en op punt 7 ( $p < 0.01$ ,  $r = 0.40$ ).

## **6. DIABETESDUUR IN RELATIE TOT HORMOON- EN VRIJE VETZUURSPIEGELS.**

### **6.1. GROEIHORMOON.**

Op punt 2, dat wil zeggen bij lage insulinetoevoer en een mediane bloedglucosespiegel van 166 mg/dl, was er een negatief verband tussen de groeihormoonspiegel en de diabetesduur ( $p < 0.02$ ,  $r = -0.41$ ). Op punt 3, dus bij verhoogde insulinetoevoer en op een mediane bloedglucosespiegel van 149 mg/dl (voor de start van de hypoglycemische fase) was er ook een negatief verband tussen de groeihormoonspiegels en de diabetesduur ( $p < 0.05$ ,  $r = -0.36$ ).

### **6.2. ADRENALINE, VRIJE VETZUREN, NORADRENALINE, GLUCAGON, CORTISOL.**

Op geen van de punten was er, in tegenstelling tot groeihormoon, een (negatieve) correlatie tussen diabetesduur en de spiegels van deze parameters.

### **6.3. DIABETESDUUR IN RELATIE TOT GLUCOSETOEVOER EN/OF HORMOONSPIEGELS TIJDENS HYPOGLYCEMIE.**

Er was geen verband tussen de glucosetoevoer of de hormoonspiegels in fase 3 en de diabetesduur.

## **7. HORMOONSPIEGELS EN GLUCOSETOEVOER TIJDENS HYPOGLYCEMIE.**

De interesse om het verband tussen de glucosetoevoer per m<sup>2</sup> en de hormoonspiegels in het stabiele deel van fase 3 na te gaan ligt voor de hand. De verwachting dat hoge hormoonspiegels samengaan met een geringe glucosetoevoer is aannemelijk.

Er werd echter alleen een verband gevonden tussen de glucosetoevoer per m<sup>2</sup> in het stabiele deel van fase 3 en de groeihormoonspiegels op punt 6 ( $p < 0.05$ ,  $r = 0.34$ ).

Er waren geen correlaties tussen de stijging van de hormoonspiegels in fase 3 (punt 7 - punt 3) en de glucosetoevoer per m<sup>2</sup> in het stabiele deel van fase 3.

### **7.1. VERSCHILLEN IN HORMOONSTIJGING IN FASE 3 EN VERSCHILLEN IN HORMOONSPIEGELS OP PUNT 7 IN EEN SUBGROEP MET EN ZONDER GLUCOSETOEVOER IN FASE 3.**

Gezien het relatief grote aantal patiënten dat geen glucosetoevoer nodig had in het stabiele deel van fase 3 werd ook nog getest of er verschillen waren in de eerder genoemde hormoonstijging tussen een groep patiënten die wel en een groep die géén glucosetoevoer kreeg. Er bestond een trend naar een hogere vrije vetzuurstijging (punt 7 - punt 3) in de groep zonder glucosetoevoer ( $p < 0.10$ ). De vrije vetzuurstijging in de groep zonder glucosetoevoer bedroeg mediaan 410  $\mu\text{Eq/l}$  terwijl die in de groep met glucosetoevoer 225  $\mu\text{Eq/l}$  bedroeg.

Er was een trend naar hogere glucagonspiegels op punt 7 in de groep zonder glucosetoevoer ( $p < 0.10$ ). De mediane glucagonspiegel in de groep zonder glucosetoevoer was 51 terwijl die in de groep met glucosetoevoer 24 ng/l bedroeg.

#### **7.1.1. GLUCOSETOEVOER IN FASE 3S.**

In fase 3s (dat wil zeggen het laatste deel van fase 3, waarin het glucoseniveau is gestabiliseerd) werd in 13 van de 35 gevallen (dit is 37%) glucose geïnfundeerd om het gewenste "hypoglycemische plateau" te handhaven. In een aantal van de experimenten ( $n=6$ ) werd het hypoglycemische plateau niet bereikt. Dit werd veroorzaakt door (subjectief) onaanvaardbare hypoglycemische klachten die noopten tot afbreken van de fase voor het geplande stabilisatieniveau was bereikt. Was de proef gecontinueerd dan zouden deze patiënten wel glucosetoevoer hebben gekregen. Indien deze patiënten worden meegeteld met de anderen die glucosetoevoer kregen dan waren 19 (13+6) van de 35 patiënten glucosebehoefstig (54%). Bij 16 was zo beschouwd géén extra glucosetoevoering nodig (46%).

## **8. VERBANDEN DIE SAMENHANGEN MET CONTRAREGULATIE EN INSULINEGEVOELIGHEID.**

Het effectief "endogeen" couperen van een (dreigende) hypoglycemie wordt enerzijds bepaald door het vermogen voldoende van de belangrijkste contraregulerende hormonen te kunnen afscheiden, maar anderzijds ook door het effect dat deze hormonen daadwerkelijk (acuut) kunnen uitoefenen op glycogenolyse en glucogenese, alsmede op het

remmende effect van enkele van deze hormonen op de perifere glucoseutilisatie. Verder is het aannemelijk dat, indien er sprake is van een hogere of lagere gevoeligheid voor insuline, dit weerslag kan hebben op de mate van effectiviteit waarmee contraregulerende hormonen "tegen insuline in" kunnen werken op de hiervoor genoemde processen. Men kan ook zeggen dat een goed contraregulerend vermogen bij een diabetespatiënt bepaald wordt door de kwantiteit en de effectiviteit van de contraregulerende hormonen enerzijds en de insulinegevoeligheid anderzijds. Het ligt op grond van deze hypothese voor de hand na te gaan of er in fase 3, ondanks het feit dat er contraregulatie gaande was, toch nog steeds verband zou blijven bestaan tussen de "glucosehulp" (dat wil zeggen de glucosetoevoer in het stabiele deel van fase 3) en de insulinegevoeligheid die het meest betrouwbaar wordt weergegeven als de glucosebehoefte in fase 2.

Er bleek inderdaad een verband te bestaan tussen de glucosebehoefte per  $\text{m}^2$  in fase 2 en de glucosetoevoer per  $\text{m}^2$  in het stabiele deel van fase 3 ( $p < 0.05$ ,  $r = 0.35$ ).

Er was geen verband tussen de glucosetoevoer per  $\text{m}^2$  in het stabiele deel van fase 3 en de glucose onafhankelijke glucosebehoefte per  $\text{m}^2$  bij de hoge insulinetoevoer in fase 2 ( $r = 0.26$ ). Evenmin was er een verband tussen de glucosetoevoer in het stabiele deel van fase 3 en de glucose afhankelijkke glucosebehoefte bij de hoge insulinetoevoer en gecorrigeerd voor een glucosespiegel van 50 mg/dl ( $r = 0.16$ ).

De correlatie tussen glucosetoevoer en de stijging van de contraregulerende hormonen is eerder besproken.

## 9. DISCUSSIE.

Het blijkt dat ongeveer 50% van de patiënten bij de verhoogde insulinetoevoer van 30 mE/ $\text{m}^2$ /min in staat is om zonder glucosetoevoer van buiten af de glucosespiegel door de effecten van contraregulatie alleen te handhaven. Dit is een opvallend hoog percentage, zeker wanneer men de mediane diabetesduur van de onderzochte groep in ogenschouw neemt (15 jaar).

Het verloop van de spiegels van de contraregulerende hormonen wijkt niet opvallend af van de bekende patronen uit de literatuur. Enkele waarnemingen zijn echter de moeite van het bespreken waard. Het is opmerkelijk dat een relatief hoog percentage van de patiënten tijdens de hypoglycemie een (min of meer) behouden respons heeft van zowel adrenaline, noradrenaline als van glucagon. Het is genoegzaam bekend dat de glucagon afgifte bij een meer dan 5 jaar bestaande type I diabetes mellitus vrijwel afwezig is<sup>310,430</sup>. Dit is in mindere mate het geval voor de afgifte van catecholaminen. De lange diabetesduur van de door ons onderzochte groep in aanmerking nemende, zijn de hormonale reacties bij de hypoglycemie dus opmerkelijk sterk. De groep patiënten was heterogeen opgebouwd, zodat de verklaring niet gezocht kan worden in bijvoorbeeld een bepaalde selectie. Een verklaring die te geven valt heeft betrekking op de methode waarmee de hypoglycemie is opgewekt. Meestal wordt een bolus injectie insuline toegediend, terwijl hier sprake was van constante en voortdurende hyperinsulinemie met een daardoor langduriger hypoglycemie. Indien dit laatste de belangrijkste oorzaak zou zijn, dan moet er geconcludeerd worden dat de afwezige responsen van de contraregulerende hormonen, die meestal worden waargenomen, niet duiden op een absoluut onvermogen tot hormoon afgifte, maar wijzen op een relatief onvermogen tot hormoonafgifte in relatie tot de toegediende hypoglycemische prikkel.

Een eenduidige verklaring voor de paradoxale groeihormoon responsen ontbreekt. Men zou ze kunnen duiden als een volledige omkering van de negatieve feedback die glucose op groeihormoon heeft. Niet uitgesloten is echter dat patiënten met een relatief slechte diabetesregulatie (die een verhoogd groeihormoon hebben) onder invloed van een doorgaande daling van de glucosespiegel toch uiteindelijk een normalisatie bereiken van de groeihormoonwaarden. Bij een dan nog verder gaande verlaging van de glucosespiegel zou er een verlate reactie kunnen zijn van de groeihormoonafgifte die men pas ná de hypoglycemie waarneemt als een paradoxale stijging. Het fenomeen werd niet eerder beschreven.

De glucosedrempels ("glycemic thresholds") die gevonden zijn voor een stijging van glucagon en adrenaline liggen niet in het hypoglycemische gebied. Ze liggen boven het algemeen geaccepteerde niveau van normoglycemie (3.9 mmol/l). Wetende dat een deel van de bekende hypoglycemische symptomatologie adrenerg van karakter is, is het suggestief om de klinisch bekende "hypoglycemische klachten" in het normoglycemische gebied te duiden als het op een verhoogd bloedglucoseniveau aanslaan van tenminste een deel van de contraregulatie bij type I diabetespatiënten. De relatief hoge drempels van glucagon en adrenaline maken verder een rol van deze hormonen bij de homeostase van de normale (niet hypoglycemische) glucosespiegel waarschijnlijk. Enkele methodologische aspecten kunnen nog worden bediscussieerd. De percentages waarvan is besloten dat ze een hormoonstijging weergeven zijn lichtelijk arbitrair. Het zal duidelijk zijn dat deze percentages echter nogal hoog zijn gekozen waardoor eerder een te lage glucosedrempel dan een te hoge wordt gevonden. Dit versterkt de kracht van de conclusies. Hetzelfde geldt voor het relatief geringe aantal punten waarop hormoonspiegels zijn bepaald. Een laag aantal bloedafname punten kan ook een vals verlaagde glucosedrempel voor een hormoon geven. Ook een (kleine) fout versterkt echter weer de conclusies. Ook ligt een drempel per definitie altijd wat hoger dan men hem kan waarnemen. Dat de glucosedrempels van de diverse contraregulerende hormonen voor symptomen bij type I diabetes mellitus zijn verhoogd, is aangetoond<sup>384</sup> (zie Hoofdstuk 3). Het is aannemelijk dat de "glucosesensor" bij type I dus een soort van "resetting" heeft ondergaan. De prikkel tot hormoonafgifte zou dan het gevolg kunnen zijn van een intracellulair energietekort. Het meest waarschijnlijk is dat de veronderstelde "resetting" het gevolg is van chronische hyperglycemie en niet impliciet bij de diabetes mellitus in engere zin behoort. Bij chronische verlaging van het glucoseniveau zijn er aanwijzingen dat de contraregulatie weer op een lager niveau begint.

Zoals gedetailleerd bij de resultaten is beschreven, waren er diverse relaties tussen enkele contraregulerende hormonen op dezelfde bloedafnamepunten. Een relatie tussen de spiegels van de beide catecholaminen werd gevonden tijdens hypoglycemie. Hetzelfde geldt voor de relatie tussen adrenaline en respectievelijk groeihormoon, cortisol en glucagon alsmede ook tussen noradrenaline en groeihormoon. Bij zeer sterke hypoglycemie tonen adrenaline en glucagon pas een relatie tussen de spiegels. Een verband tussen cortisol en groeihormoon was alleen aanwezig op een punt in de stabiele situatie met verhoogde glucose- en insulinespiegels. Dit geldt ook voor de relatie tussen groeihormoon en vrije vetzuren. Verenigbaar met de verhoudingsgewijs dominante invloed van insuline ten opzichte van adrenaline op de spiegels van de vrije vetzuren is de afwezige relatie tussen vrije vetzuren en adrenaline gedurende de gehele proef. De frequent gevonden relatie op diverse punten tussen cortisol en vrije vetzuren blijft vooralsnog onverklaard (althans wanneer men het verband als zeer direct wil duiden).



De suppresserende invloed van glucose op de spiegels van glucagon en vrije vetzuren is wel bekend<sup>325,476</sup>. In het onderzoek werd deze bevestigd. Opmerkelijk was dat in de hypoglycemische fase er zowel voor glucagon als voor vrije vetzuren een trend naar verschil viel op te merken tussen een groep patiënten met (lagere waarden) en een groep zonder (hogere waarden) de noodzaak tot glucosetoevoer in de hypoglycemische fase. De ketogene samen met de glycogenolytische eigenschappen van glucagon zouden één en ander kunnen verklaren.

Dat er vrijwel geen relaties werden gevonden tussen de contraregulerende hormonen in de hypoglycemische fase en de noodzakelijke glucosetoevoer kan passen bij de overheersende rol die de individuele insuline- en glucosegevoeligheid spelen als determinanten van de ernst van een hypoglycemie. Er is reeds besproken dat voor deze laatste stelling in dit onderzoek argumenten zijn gevonden.

## 10. KLINISCH RELEVANTE CONCLUSIES:

1. Bij een constante insulineinfusie van ongeveer 3 E per uur bleek in deze studie dat  $\pm 50\%$  van de onderzochte patiënten door middel van contraregulatie in staat was om een daling van de glucosespiegel te voorkómen. Verlaagde spiegels van adrenaline en glucagon tijdens hypoglycemie leken vooral aanwezig te zijn bij patiënten met klinische tekenen van neuropathie. Er zijn diverse patiënten bij wie tijdens toenemende hypoglycemie een onverklaarde daling van de groeihormoonspiegels werd waargenomen.

2. Bij een relatief grote groep diabetespatienten ( $n=35$ ) met een relatief lange diabetesduur (15 jaar) bevinden de glucosedrempels voor de afgifte van adrenaline en glucagon zich in het normoglycemische gebied. Dit betekent dat bij een aantal patiënten de contraregulatie reeds op een verhoogde glucosespiegel inzet. De relatief hoge drempels van adrenaline en glucagon pleiten verder voor de stelling dat deze hormonen ook een belangrijke rol spelen bij de meer subtiële regulatie van de glucosespiegel (naast de belangrijke werking tijdens een ernstige hypoglycemie).

3. De individuele insulinegevoeligheid is een sterkere determinant van de noodzakelijke glucosetoevoer bij een hypoglycemie dan het potentiële aanwezig contraregulatie.

4. De methode waarmee een experimentele hypoglycemie wordt opgewekt lijkt een niet onaanzienlijke invloed te hebben op het hormonale reactiepatroon tijdens die hypoglycemie.

## SAMENVATTING.

In dit proefschrift worden enige aspecten van de glucosehomeostase bij type I (insuline afhankelijke) diabetes mellitus behandeld. Deze aspecten betreffen onder meer: het effect van verschillende glucosespiegels op de glucosebehoefte bij lage ( $\pm 10 \text{ mE/m}^2/\text{min}$ ) en verhoogde ( $30 \text{ mE/m}^2/\text{min}$ ) insulinetoevoer, het verdelingsvolume van glucose, de relaties tussen het verdelingsvolume en de glucosetoevoer, hormonale reacties bij hypoglycemie en de relaties tussen glucosespiegels en afgifte van contraregulerende hormonen.

In Hoofdstuk 1 wordt een literatuuroverzicht gegeven over opvattingen inzake het verdelingsvolume van glucose in normale en pathologische omstandigheden. Er worden argumenten aangevoerd die aannemelijk maken dat er een relatie zou kunnen bestaan tussen de omvang van het verdelingsvolume van glucose en de concentratie van vrije, intracellulaire glucose. Een aantoonbaar post-receptordefect wordt aangewezen als de waarschijnlijke oorzaak hiervoor.

In Hoofdstuk 2 wordt een literatuuroverzicht gegeven van de belangrijkste fysiologische stappen in de verwerking van glucose. De meest relevante niet-hormonale regulatoren van de glucosespiegel worden besproken: het membraantransport van glucose, het massaffect van glucose, de post-receptorverwerking van glucose en voorts de (metabole) klaring van glucose.

In Hoofdstuk 3 worden de hormonale aspecten van de glucosehomeostase behandeld. Aan de orde komen onder meer de specifieke werking van de contraregulerende hormonen op het glucosemetabolisme alsmede de interacties tussen deze hormonen onderling. Speciale aandacht wordt besteed aan de literatuur over het (bloed)glucoseniveau, dat als prikkel fungeert voor de afgifte van contraregulerende hormonen bij een beginnende hypoglycemie.

In Hoofdstuk 4 wordt het principe besproken van de meting van het glucoseverdelingsvolume zoals die in dit proefschrift wordt geïntroduceerd. Verschillen en parallellen met andere bepalingsmethoden worden bediscussieerd.

In Hoofdstuk 5 komen enige voor dit proefschrift essentiële begrippen aan de orde: glucose afhankelijke en glucose onafhankelijke glucosebehoefte. Vergelijkingen worden gemaakt met meer bekende begrippen zoals insuline afhankelijke en insuline onafhankelijke glucosebehoefte. Principes van meting en berekening worden besproken.

In Hoofdstuk 6 wordt een bekend aspect uit de enzymkinetiek behandeld dat ook (althans in veel situaties) van toepassing blijkt te zijn op de totale lichaamsglucosebehoefte (Michaelis-Menten kinetiek). Er wordt aangetoond dat de in Hoofdstuk 5 geïntroduceerde begrippen met betrekking tot glucose afhankelijkheid en glucose onafhankelijkheid uit deze vorm van glucosekinetiek zijn af te leiden. Ook wordt er een theoretisch "drie-compartimenten-model" uitgewerkt van het glucoseverdelingsvolume. Hiermee is het mogelijk om meer inzicht te verkrijgen in de mechanismen die aan de werkelijk gevonden resultaten ten grondslag liggen.

In Hoofdstuk 7 komen de proefopstelling, methoden en technieken aan de orde.

In Hoofdstuk 8 worden resultaten met een algemeen karakter uitgewerkt. Bij lage insulinetoevoer blijkt autoregulatie door de glucosespiegel van de totale lichaamsglucosebehoefte een belangrijke rol te spelen. Er blijken aanzienlijke interindividuele ver-

schillen te bestaan in glucose afhankelijkheid van de glucosebehoefte. Insulinegevoeligheid blijkt bij het optreden van hypoglycemie een belangrijker determinant van de glucosespiegel dan de werking van de contraregulerende hormonen. Alle metingen werden verricht bij fysiologische insulineconcentraties.

In Hoofdstuk 9 worden de specifieke resultaten besproken van de glucose afhankelijkheid van de glucoseverwerking. Het blijkt dat bij verhoogde insulinetoevoer 43% van de patiënten een van glucose onafhankelijke verwerking van glucose krijgt. Er werden géén effecten van contraregulerende hormonen op dit mechanisme vastgesteld. Het fenomeen van de glucose onafhankelijkheid is vrijwel zeker binnen een etmaal reversibel. Bij aanwezige glucose afhankelijkheid is er steeds in het onderzochte glucosetraject een lineaire relatie tussen de glucosebehoefte en de glucosespiegel. Beargumenteerd wordt dat er door interindividuele verschillen in glucose afhankelijkheid dus ook grote verschillen kunnen bestaan tussen patiënten met een overigens gelijke mate van insulinegevoeligheid. Er waren duidelijke reciproke verbanden tussen spiegels van vrije vetzuren en de totale lichaamsglucosebehoefte alsmede met de glucose afhankelijkke glucosebehoefte.

In Hoofdstuk 10 worden de resultaten van metingen van het glucoseverdelingsvolume besproken. Diverse volumes zijn groter dan reeds bekende (fysiologische) volumes van het extracellulaire compartiment, zodat aannemelijk is dat het intracellulaire compartiment in dit geval dan ook deelachtig is aan het glucoseverdelingsvolume. Dit suggereert een toegenomen concentratie van vrije intracellulaire glucose. Er wordt beargumenteerd dat er bij een ongelijkheid van de snelheid van het glucosetransport over de celmembraan (normaal of hoog) en de intracellulaire (post-receptor)verwerking van glucose (laag) een zogenaamd post-receptordefect manifest kan worden en dat in die situatie daardoor het glucoseverdelingsvolume zou kunnen gaan stijgen.

In Hoofdstuk 11 wordt een indeling gemaakt in drie groepen patiënten die verschillen tonen in de mate van glucoseafhankelijkheid. De groep met de grootste glucose onafhankelijkheid bij de verhoogde insulinetoevoer bleek de grootste verdelingsvolumes van glucose te hebben. Deze groep had ook de hoogste vrije vetzuurspiegels bij verhoogde insulinetoevoer.

In Hoofdstuk 12 worden aspecten van de contraregulatie besproken. Het verloop van de contraregulerende hormonen wordt getoond. Ongeveer 50% van de onderzochte patiënten bleek in staat om bij de verhoogde insulinetoevoer met behulp van contraregulatie alleen de glucosespiegel te kunnen stabiliseren. Diverse patiënten (20%) toonden bij toenemende hypoglycemie een (onverklaarde) groeihormoon daling in plaats van de verwachte stijging. Extra aandacht werd besteed aan glucosespiegels waarbij voor het eerst afgifte optrad van een contraregulerend hormoon (glucose drempels). Bij glucagon en adrenaline bleek dat deze drempels zich bevonden in het normoglycemische gebied, zodat geconcludeerd werd dat de contraregulatie bij patiënten met diabetes mellitus reeds kan inzetten nog voordat er sprake is van een biochemische hypoglycemie.

## SUMMARY.

This thesis deals with some aspects of glucose homeostasis in type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. These aspects concern among others: the effect of different glucose levels on the glucose disposal at low ( $\pm 10$  mU/m<sup>2</sup>/min) and at increased (30 mU/m<sup>2</sup>/min) insulin supply, the glucose space, the relations between glucose space and glucose disposal, the hormonal reactions in case of hypoglycemia and the relations between glucose levels and the release of counterregulatory hormones.

In Chapter 1 a survey is given of the literature on already known aspects of the glucose space in normal and pathological circumstances. Arguments are brought forward that make a relation plausible between the size of the glucose space and the concentration of free, intracellular glucose. An evident post-receptor defect is shown to be the probable cause for this relation.

In Chapter 2 a survey is given of the literature on the most important physiological stages in the glucose disposal. The most relevant non-hormonal regulators of the glucose level are discussed: the membrane transport of glucose, the mass effect of glucose, the post-receptor disposal of glucose and furthermore the metabolic clearance rate of glucose.

In Chapter 3 the hormonal aspects of glucose homeostasis are discussed. Among other subjects the specific action of counterregulatory hormones on glucose metabolism is discussed, as well as the interactions between these hormones. Special attention is paid to the literature on the (blood)glucose level, which functions as the stimulus for release of counterregulatory hormones in case of beginning hypoglycemia.

In Chapter 4 the principle of measuring the glucose space, as it is introduced in this thesis, is discussed. Differences and parallels with other methods for measuring this are discussed.

In Chapter 5 some conceptions which are essential for this thesis are outlined: glucose dependent and glucose independent glucose need. Comparisons are made between better known conceptions such as insulin dependent and insulin independent glucose need. Principles for measuring and calculating are discussed.

In Chapter 6 a well-known aspect from enzymekinetics is discussed, which also appears to apply (at least in many situations) to the total body glucose disposal (Michaelis-Menten kinetics). It is concluded that the conceptions introduced in Chapter 5 concerning the glucose dependence and the glucose independence are to be deduced from this form of glucose kinetics. A theoretical "three-compartment-model" of the glucose space is also developed. With this model it is possible to gain a better insight into the mechanisms underlying the actual results.

In Chapter 7 the experimental design, methods and techniques are outlined.

In Chapter 8 results of a general character are worked out. When there is a low insulin supply autoregulation of the total body glucose disposal by the glucose level turns out to play an important part. Considerable interindividual differences are proven to exist in glucose dependence of the glucose disposal. In case of the hypoglycemic counterregulation insulin sensitivity is apparently a more important determinant of the glucose level than the action of counterregulatory hormones. All measurements were performed on physiological insulin concentrations.

In Chapter 9 the specific results of glucose dependence of the glucose disposal are discussed. During increased insulin supply 43% of the patients proved to have a glucose independent glucose disposal. No effects of counterregulatory hormones on this mechanism were ascertained. The phenomenon of glucose independence is almost certain to be reversible within 24 hours. When there is an existing glucose dependence, a constant linear relation between the glucose disposal and the glucose level in the examined glucose range can be observed. It is reasoned that by interindividual differences in glucose dependence great differences can therefore exist between patients with otherwise similar degrees of insulin sensitivity. Distinct negative relations were observed between levels of free fatty acids and the total body glucose disposal as well as the glucose dependent glucose disposal.

In Chapter 10 results of measurements of the glucose space are discussed. Several spaces are larger than the already known (physiological) spaces of the extracellular compartment, so that the intracellular compartment can then be assumed to take a part in the glucose space. This suggests an increased concentration of free intracellular glucose. It is reasoned that in case of a dissimilarity of the speed of glucose transport along the cell membrane (normal or high) and the intracellular (post-receptor) disposal of glucose (low) a so-called post-receptordefect can manifest itself. Such a situation could be the cause of an increased glucose space.

In Chapter 11 a classification is made of three groups of patients differing in the degree of glucose dependence. The group with the greatest glucose independence turned out to have the largest glucose spaces. This group also had the highest free fatty acid levels during the increased insulin supply.

In Chapter 12 aspects of counterregulation are discussed. The patterns of counterregulatory hormones are shown. About 50% of the examined patients were able to stabilize the glucose level with the aid of counterregulation alone (during the increased insulin supply). Several patients (20%) showed an (unexplained) growth hormone decrease, in case of increasing hypoglycemia, instead of the expected rise. Special attention was paid to those glucose levels in which for the first time a release of a counterregulatory hormone set in ("glycemic thresholds"). Especially for glucagon and adrenalin these thresholds proved to be in the normoglycemic area, so that it was concluded that counterregulation in patients with diabetes mellitus can already start even before a biochemical hypoglycemia is present.

# APPENDIX.

TABEL A.1.: Basisgegevens van de patiënten. De duplo-experimenten zijn gemerkt met \* en #.

NR.	ID.	LEEF- TIJD	DIAB- DUUR	LENGTE	GEW.	OPP.
1	B	42	15	183	75	1.96
2	C	24	20	163	46	1.47
3	E	23	17	164	62	1.67
4	F	40	12	175	78	1.94
5	G*	27	11	162	57	1.60
6	H	30	29	183	79	2.01
7	I	24	16	165	50	1.53
8	J	17	15	158	55	1.54
9	K	37	27	180	68	1.86
10	L#	26	17	169	64	1.73
11	M	24	12	194	86	2.17
12	N	19	12	168	71	1.81
13	O	57	33	172	65	1.77
14	P	60	15	169	66	1.76
15	Q	20	2	175	65	1.79
16	R	28	16	168	60	1.68
17	S	43	17	157	55	1.54
18	T	20	19	167	59	1.66
19	V	31	10	184	77	1.99
20	W#	26	17	169	64	1.73
21	X	28	18	197	87	2.20
22	Y	24	12	170	47	1.53
23	Z*	27	11	162	57	1.60
24	B	27	16	171	51	1.58
25	C	22	21	172	67	1.79
26	D	21	2	178	57	1.71
27	E	27	4	179	71	1.89
28	F	37	8	182	75	1.96
29	G	40	13	165	64	1.71
30	H	29	17	178	75	1.92
31	J	31	11	179	75	1.93
32	K	46	22	196	74	2.05
33	L	50	15	179	83	2.01
34	M	30	15	183	82	2.04
35	N	40	23	167	57	1.63
36	O	27	20	180	78	1.97
37	P	23	3	174	70	1.83

**TABEL A.2.:** De gegevens van de individuele patiënten. ID:Identificatiecode, VOL: Glucose verdelingsvolume in liters, GABLI-N: De glucose afhankelijke glucose behoefte bij de lage insuline toevoer (genormeerd), GABHI-N: Idem, maar dan bij de verhoogde insuline toevoer, GOBLI: De glucose onafhankelijke glucosebehoefte bij de lage insuline toevoer, GOBHI: Idem, maar bij de verhoogde insuline toevoer. Glucosebehoefte in mg/min resp. mg/m<sup>2</sup>/min. De duplo-experimenten zijn gemerkt met \* en #.

NR. ID.		VOL.		GABLI-N		GABHI-N		GOBLI		GOBHI	
		/M <sup>2</sup>		/M <sup>2</sup>		/M <sup>2</sup>		/M <sup>2</sup>		/M <sup>2</sup>	
1	B	14.7	7.5	95	48	202	103	-33	-17	45	23
2	C	19.4	13.1	94	64	0	0	-26	-18	272	185
3	E	16.6	9.9	245	147	0	0	-129	-77	187	112
4	F	12.4	6.3	525	271	0	0	-302	-156	196	101
5	G*	21.8	13.6			0	0			218	136
6	H	18.9	9.4	183	91	0	0	-88	-44	265	132
7	I	12.1	7.9	456	298	0	0	-568	-371	165	108
8	J	11.1	7.2	294	191	170	110	-133	-86	52	34
9	K	16.5	8.8	295	159	0	0	-330	-177	164	88
10	L#	16.8	9.7	216	125	244	141	-59	-34	62	36
11	M	16.6	7.6	201	93	284	132	-171	-79	-31	-14
12	N	17.3	9.5	80	44	0	0	-23	-13	185	102
13	O	34.1	19.2	261	147	0	0	-161	-91	682	385
14	P	13.8	7.8	167	95	184	106	-64	-36	41	23
15	Q	17.4	9.7	255	142	98	56	-129	-72	172	96
16	R	13.3	7.9	128	76	0	0	-47	-28	372	221
17	S	8.1	5.2	151	98	134	87	-68	-44	74	48
18	T	20.8	12.5	206	124	0	0	-114	-69	339	204
19	V	13.6	6.8	177	89	197	100	-107	-54	78	39
20	W#	9.3	5.3	24	14	150	89	-55	-32	57	33
21	X	14.3	6.5	183	83	469	213	-90	-41	-77	-35
22	Y	7.7	5.0	252	165	174	115	-147	-96	-43	-28
23	Z*	8.4	5.2	157	98	158	100	-58	-36	15	9
24	B	11.0	6.9	167	106	202	129	-79	-50	-23	-15
25	C	9.2	5.1	212	118	318	179	-128	-72	-42	-23
26	D	6.5	3.8	118	69	56	33	-88	-51	22	13
27	E	28.6	15.1	499	264	0	0	-128	-68	400	212
28	F										
29	G	13.0	7.6	10	6	113	66	41	24	59	35
30	H	18.6	9.6	376	197	0	0	-242	-126	503	262
31	J	22.1	11.4			0	0			294	152
32	K	13.9	6.7	124	60	216	105	-73	-36	157	77
33	L	11.4	5.6	258	128	603	300	-131	-65	-162	-81
34	M	31.8	15.5	209	102	0	0	-131	-64	531	260
35	N	12.7	7.7	113	69	348	215	-51	-31	-57	-35
36	O	9.6	4.8	295	150	139	71	-253	-128	38	19
37	P	16.6	9.0	125	68	564	308	-78	-43	-89	-49

## PUBLICATIES.

Oosten HR, Sluiter WJ, Reitsma WD, Doorenbos H. Bloodglucose-autoregulation: A potential important mechanism in stability of IDDM. Diabetes research and clinical practice. 1985;suppl. 1:S424.

Oosten HR, Sluiter WJ, Reitsma WD, Doorenbos H. Non-tracer technique in measuring glucose space: Abnormal increased volume in some type I (insulin-dependent) diabetic patients. Diabetologia 1986;29:380A.

Sluiter WJ, Oosten HR, Reitsma WD, Doorenbos H. Impairment of the influence of the glucose level on glucose disposal at slight hyperinsulinaemia in type I (insulin-dependent) diabetes. Diabetologia 1986;29:474A.

Oosten HR, Sluiter WJ, Reitsma WD, Doorenbos H. Glycemic thresholds for counter-regulatory hormones in type I (insuline-dependent) diabetes mellitus. Diabetologia 1987;30:564A.

Oosten HR. Tegenregulatie bij diabetes mellitus. In: Voordrachten gehouden in het kader van de 12<sup>e</sup> Groninger internistencursus. (Aalsmeer) ISBN 90-6827-012-5, 1986.





**REFERENTIES.**



1. Searle GL. The use of isotope turnover techniques in the study of carbohydrate metabolism in man. *Clinics in Endocrinology and metabolism* 1976; 5:783-804.
2. Shreeve WW, Baker N, Miller M, Shipley RA, Incefy GE, Craig JW.  $^{14}\text{C}$  studies in carbohydrate metabolism. II. The oxidation of glucose in diabetic human subjects. *Metabolism* 1956; 5:22-34.
3. Polycove M. Glucose kinetics and oxidation and the effects of insulin, tolbutamide, and phenethylbiguanide (DBI) in normal human subjects. *Univ of Calif Radiol Lab* 1961; 9897:188-200.
4. Manougian E, Polycove M, Linfoot JA, Lawrence JH.  $^{14}\text{C}$  glucose kinetic studies in normal, diabetic, and acromegalic subjects. *J Nuclear Med* 1964; 5:763-795.
5. Forbath N, Hetenyi Jr. G. Glucose dynamics in normal subjects and diabetic patients before and after a glucose load. *Diabetes* 1966; 15:778-789.
6. Paul P, Bortz WM. Turnover and oxidation of plasma glucose in lean and obese humans. *Metabolism* 1969; 18:570-584.
7. Reichard Jr. GA, Moury NF, Hochella NJ, Patterson AL, Weinhouse S. Quantitative estimation of the Cori cycle in the human. *J Biol Chem* 1963; 238:495-501.
8. Kreisberg RA. Glucose metabolism in normal and obese subjects; effect of phenformin. *Diabetes* 1968; 17:481-488.
9. Brech WJ, Glennon JA, Gordon ES. Kinetische untersuchungen des glucosetoffwechsels. I. Glucosepool, Glucoseumsatz and Cori-cyclus bei normalen Versuchspersonen. *Klin Wochenschrift* 1970; 48:529-536.
10. Cahill Jr. GF, Herrera MG, Morgan AP, Soeldner JS, Steinke J, Levy PL, Reichard Jr. GA, Kipnis DM. Hormone fuel inter-relationships during fasting. *J Clin Invest* 1966; 45:1751-1769.
11. Searle GL, Shames D, Cavalieri RR, DeGrazia J, Zarcone V, Porte Jr. D, Bagdade JD. Kinetics of lactate turnover and oxidation in man. In *Dynamic Studies with Radioisotopes in Medicine* 1974; Vol.I. IAEA SM 185/47.
12. Searle GL, Shilling S, Porte Jr. D, Barbaccia J, DeGrazia J, Cavalierie RR. Body glucose kinetics in nondiabetic human subjects after phenylbiguanide. *Diabetes* 1966; 15:173-178.
13. Shames DM, Berman M, Segal S. Effects of thyroid disease on glucose oxidative metabolism in man. A compartmental model analysis. *J Clin Invest* 1971; 50:627-641.
14. Long CI, Spencer JL, Kinney JM, Geiger JW. Carbohydrate metabolism in normal man and effect of glucose infusion. *J Appl Phys* 1971; 31:102-109.
15. Strisower EH, Searle GL. In: *Brookhaven Symposia in Biol.* no. 5; 1953.
16. Searle GL, Shames D, Cavalieri R, Bagdade JD, Porte Jr. D. Evaluation of ethanol hypoglycemia in man: turnover studies with C-6 $^{14}\text{C}$  glucose. *Metabolism* 1974; 23:1023-1035.
17. Cowan JS, Vranic M, Wrenshall GA. Effects of preceding diet and fasting on glucose turnover in normal dogs. *Metabolism* 1969; 18:319-330.
18. Steele R. Influences of glucose loading and of injected insulin on hepatic glucose output. *Ann NY Acad Sci* 1959; 82:420-430.
19. Norwich KH, Radziuk J, Lau D, Vranic M. Experimental validation of non-steady state measurements using a tracer infusion method and inulin as tracer and tracee. *Can J Physiol Pharmacol* 1974; 52:508-521.
20. Radziuk J, Norwich KH, Vranic M. Measurement and validation of non-steady turnover rates with application to the inulin and glucose systems. *Federation Proc* 1974; 33:1855-1864.
21. Steele R, Rostami H, Altszuler N. A two compartment calculator for the dog glucose pool in the nonsteady state. *Fed Proc* 1974; 33:1869-1876.
22. Steele R, Wall JS, de Bodo RC, Altszuler N. Measurement of size and turnover rate of body glucose pool by the isotope dilution method. *Am J Physiol* 1956; 187:15-24.
23. Steele R, Wall JS, DeBodo RC, Altszuler N. Carbohydrate metabolism of hypophysectomized dogs as studied with radioactive glucose. *Am J Physiol* 1956; 187:25-31.
24. De Bodo RC, Steele R, Altszuler N, Dunn A, Bishop JS. On the hormonal regulation of carbohydrate metabolism; Studies with C $^{14}$  glucose. *Recent Prog Horm Res* 1963; 19:445-488.

25. Proietto J, Rohner-Jeanrenaud F, Ionescu E, Terrettaz J. Non-steady-state measurement of glucose turnover in rats by using a one-compartment model. *Am J Physiol* 1987; 252:E77-E84.
26. Kipnis DM, Cori CF. Studies of tissue permeability. III. The effect of insulin on pentose uptake by the diaphragm. *J Biol Chem* 1957; 224:681-693.
27. Morgan HE, Cadenas E, Henderson M, Park CR. In Park CR et al. The action of insulin on the transport of glucose through the cell membrane. *Am J Med* 1959; may:674-684.
28. Park CR, Reinwein D, Henderson MJ, Cadenas E, Morgan HE. The action of insulin on the transport of glucose through the cell membrane. *Am J Med* 1959; may:674-684.
29. Allsop JR, Wolfe RR, Burke JF. The reliability of rates of glucose appearance in vivo calculated from constant tracer infusions. *Biochem J* 1978; 172:407-416.
30. Radziuk J, Norwich KH, Vranic M. Experimental validation of measurements of glucose-turnover in non-steady state. *Am J Physiol* 1978; 234:E84-E93.
31. Chesley LC, Gaudino M, Rubin MI, Calcagno PL, Krupp MA. Extracellular body water: Man. Part I. Constant infusion technique. In *Biological handbooks, blood and other body fluids*. D.S. Dittmer, ed. Federation of American Societies for experimental biology, Washington D.C. 355.
32. Harrison's: Principles of internal medicine. 9<sup>th</sup> ed. Isselbacher KJ, Adams DA, Braunwald E, Petersdorf RG, Wilson JD (editors). McGraw-Hill Kogakusha Ltd, Tokyo 1980.
33. Gottesman I, Mandarino L, Gerich J. Use of glucose uptake and glucose clearance for the evaluation of insulin action. *Diabetes* 1984; 33:184-191.
34. Foley J, Cushman S, Salans L. Intracellular glucose concentration in small and large adipose cells. *Am J Physiol* 1980; 238:E180-E185.
35. Ferrannini E, Smith D, Cobelli C, Toffolo G, Pilo A, DeFronzo RA. Effect of insulin on the distribution and disposition of glucose in man. *J Clin Invest* 1985; 76:357-364.
36. Wrenshall GA, Hetenyi Jr. G. Successive measured injections of tracer as a method for determining characteristics of accumulation and turnover in higher animals with access limited to blood: tests in hydrodynamic systems and initial observations on insulin action in dogs. *Metabolism* 1959; 8:531-543.
37. Park CR, Johnson LH, Wright Jr. JH, Batsel H. Effect of insulin on transport of several hexoses and pentoses into cells of muscle and brain. *Am J Physiol* 1957; 191:13-18.
38. Namba H, Lucignani G, Nehlig A, Patlak C, Pettigrew K, Kennedy C, Sokoloff L. Effects of insulin on hexose transport across blood-brain barrier in normoglycemia. *Am J Physiol* 1987; 252:E299-E303.
39. Mangnall D, Quayle AR, Clark RG. A simple model for insulin-receptor interactions and insulin dependent glucose uptake by adipocytes. *Int J Bio Medical Computing* 1984; 15:327-339.
40. Meyer HU, Curchod B, Pahud P, Jequier E, Felber J-P. Modifications of glucose storage and oxidation in nonobese diabetics, measured by continuous indirect calorimetry. *Diabetes* 1980; 29:752-756.
41. Richter EA, Ruderman NB, Gavras H, Belur ER, Galbo H. Muscle glycogenolysis during exercise: dual control by epinephrine and contractions. *Am J Physiol* 1982; 242:E25-E32.
42. Richer EA, Ploug T, Galbo H. Increased muscle glucose uptake after exercise. No need for insulin during exercise. *Diabetes* 1985; 34:1041-1048.
43. Searle GC, Mortimore GE, Buckley RE, Reilly WA. Plasma glucose turnover in humans as studied with C<sup>14</sup> glucose. Influence of insulin and tolbutamide. *Diabetes* 1959; 8:163-173.
44. Gatewood LC, Ackerman E, Rosevear JW, Molnar GD. Modelling blood glucose dynamics. *Behav Sci* 1970; 15:72-87.
45. Tserng K, Kalhan SC. Estimation of glucose carbon recycling and glucose turnover with U-<sup>13</sup>C-glucose. *Am J Physiol* 1983; 245:E476-E482.
46. Crane RK, Sols A. The non-competitive inhibition of brain hexokinase by glucose-6-phosphate and related compounds. *J Biol Chem* 1954; 210:597-606.
47. Kipnis DM, Helmreich E, Cori CF. Studies of tissue permeability. IV. The distribution of glucose between plasma and muscle. *J Biol Chem* 1959; 234:165-170.

48. Crane RK, Sols A. The association of hexokinase with particulate fractions of brain and other tissue homogenates. *J Biol Chem* 1953; 203:273-292.
49. Kalhan SC, Ricanati ES, Tserng K-Y, Savin SM. Glucose turnover in chronic uremia: increased recycling with diminished oxidation of glucose. *Metabolism* 1983; 32:1155-1162.
50. Bergman RN, Phillips LS, Cobelli C. Physiologic evaluation of factors controlling glucose tolerance in man. Measurement of insulin sensitivity and  $\beta$ -cell glucose sensitivity from the response to intravenous glucose. *J Clin Invest* 1981; 68:1456-1467.
51. Cowan JS, Hetenyi Jr. G. Glucoregulatory responses in normal and diabetic dogs recorded by a new tracer method. *Metabolism* 1971; 20:360-372.
52. Parving HH, Kastrup J, Smidt UM. Reduced transcapillary escape of albumin during acute blood-pressure-lowering in type I (insulin-dependent) diabetic patients with nephropathy. *Diabetologia* 1985; 28:797-801.
53. Katz A, Broberg S, Sahlin K, Wahren J. Leg glucose uptake during maximal dynamic exercise in humans. *Am J Physiol* 251; E65-E70.
54. Sjøgaard G, Adams RP, Saltin B. Water and ion shifts in skeletal muscle of humans with intense dynamic knee extension. *Am J Physiol* 1985; 248 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 17):R190-R196.
55. Chasiotis D, Brandt R, Harris RC, Hultman E. Effects of beta-blockade on glycogen metabolism in human subjects during exercise. *Am J Physiol* 1983; 245:E166-E170.
56. Essén B. Studies on the regulation of metabolism in human skeletal muscle using intermittent exercise as an experimental model. *Acta Physiol Scand Suppl* 1978; 454:1-32.
57. Harris RC, Hultman E, Sahlin K. Glycolytic intermediates in human muscle after isometric contraction. *Pluegers Arch* 1981; 389:277-282.
58. Eaton RP, Allen RC, Shade DS, Erickson KM, Standefer J. Prehepatic insulin production in man: kinetic analysis using peripheral connecting peptide behavior. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51:520-528.
59. Sherwin RS, Kramer KJ, Tobin JD, Insel PA, Liljenquist JE, Berman M, Andres R. A model of the kinetics of insulin in man. *J Clin Invest* 1974; 53:1481-1492.
60. Genuth SM. Metabolic clearance of insulin in man. *Diabetes* 1972; 21:1003-1012.
61. Tranberg KG, Hagander P, Thorell J. Disappearance of insulin in man: variation with the plasma insulin level. *Acta Endocrinol* 1981; 97:391-397.
62. Waldhäusl WK, Gasic S, Bratusch-Marrain P, Korn A, Nowotny P. Feedback inhibition of biosynthetic human insulin of insulin release in healthy subjects. *Am J Physiol* 1982; 243:E476-E482.
63. Field JB. Extraction of insulin by liver. *Am Rev Med* 1973; 24:309-326.
64. Waldhäusl W, Gasic S, Bratusch-Marrain P, Nowotny P. The 75-g oral glucose tolerance test: effect on splanchnic metabolism of substrates and pancreatic hormone release in healthy man. *Diabetologia* 1983; 25:489-494.
65. Blackard WG, Nelson NC. Portal and peripheral vein immunoreactive insulin concentrations before and after glucose infusion. *Diabetes* 1970; 19:302-306.
66. Waldhäusl W, Bratusch-Marrain P, Kruse V, Jensen J, Nowotny P, Vierhapper H. Effect of insulin antibodies on insulin pharmacokinetics and glucose utilisation in insulin dependent diabetic patients. *Diabetes* 1985; 34:166-173.
67. Berson SA, Yallow RS, Bauman A, Rothschild MA, Newery K. Insulin- $I^{131}$  metabolism in human subjects: demonstration of insulin binding globulin in the circulation of insulin treated subjects. *J Clin Invest* 1956; 35:170-190.
68. Bergeron JJM, Cruz J, Khan MN, Posner BI. Uptake of insulin and other ligands into receptor-rich endocytic components of target cells: the endoplasmic apparatus. *Ann Rev Physiol* 1985; 47:383-403.
69. Radziuk J, McDonald TJ, Rubenstein D, Dupré J. Initial splanchnic extraction of ingested glucose in normal man. *Metabolism* 1978; 27:657-669.
70. Ferranini E, Björkman O, Reichard GH, Pilo A, Olsson M, Wahren J, DeFronzo R. The disposal of an oral glucose load in healthy subjects. A quantitative study. *Diabetes* 1985; 34:580-588.

71. Katz LD, Glickman MG, Rapaport S, Ferrannini E, DeFronzo RA. Splanchnic and peripheral disposal of oral glucose in man. *Diabetes* 1983; 32:675-679.
72. Nickelson MJ, Butterfield WJH. Peripheral glucose uptake during the oral glucose tolerance in normal and obese subjects and borderline and frank diabetes. *Clin J Med* 1971; 40:261-273.
73. Jackson RA, Blix PM, Matthews JA, Morgan LM, Rubenstein AH, Nabarro JDN. Comparison of peripheral glucose uptake after oral glucose loading or a mixed meal. *Metabolism* 1983; 32:706-710.
74. DeFronzo RA, Jacot E, Jéquier E, Maeder E, Wahren J, Felber JP. The effect of insulin on the disposal of intravenous glucose. Results from indirect calorimetry and hepatic and femoral venous catheterization. *Diabetes* 1981; 30:1000-1007.
75. DeFronzo RA, Ferrannini E, Hendler R, Felig P, Wahren J. Regulation of splanchnic and peripheral glucose uptake by insulin and hyperglycemia in man. *Diabetes* 1983; 32:35-45.
76. Felig P, Wahren J, Hendler R. Influence of oral glucose ingestion on splanchnic glucose and gluconeogenic substrate metabolism in man. *Diabetes* 1975; 24:468-295.
77. Waldhäusl W, Bratusch-Marrain P, Gasic S, Korn A, Nowtony P. Insulin production rate following glucose ingestion estimated by splanchnic C-peptide output in normal man. *Diabetologia* 1979; 17:221-227.
78. Yki-Järvinen H, Helve E, Koivisto VA. Relationship between oral glucose tolerance and insulin sensitivity in healthy man and type I diabetic patients. *Acta Endocrinol* 1986; 112:355-360.
79. DeFronzo RA, Alvestrand A, Smith D, Hendler R, Hendler E, Wahren J. Insulin resistance in uremia. *J Clin Invest* 1981; 67:563-568.
80. Newgard CB, Hirsch LJ, Foster DW, McGarry JD. Studies on the mechanism by which exogenous glucose is converted into liver glycogen in the rat. *J Biol Chem* 1983; 258:8046-8052.
81. Lang CH, Bagby GJ, Blakesley HL, Johnson JL, Spitzer JJ. Plasma glucose concentration determines direct versus indirect liver glycogen synthesis. *Am J Physiol* 1986; 251:E584-E590.
82. Nilsson L, Hultman E. Liver and muscle glycogen in man after glucose and fructose infusion. *Scand J Clin Lab Invest* 1974; 33:5-10.
83. Windmueller HG, Speath AE. Identification of ketone bodies and glutamine as the major respiratory fuels in vivo for postabsorptive rat small intestine. *J Biol Chem* 1978; 253:69-76.
84. Shulman GI, Lacy WW, Liljenquist JE, Keller U, Williams E. Effect of glucose, independent of changes in insulin and glucagon secretion on alanine metabolism in the conscious dog. *J Clin Invest* 1980; 65:496-505.
85. Björntorp P, Sjöström L. Carbohydrate storage in man: speculations and some quantitative considerations. *Metabolism* 1978; 27:1853-1865.
86. Czech MP. Insulin action and the regulation of hexose transport (Review). *Diabetes* 1980; 29:399-409.
87. Britton HG. Permeability of the human red cell to labelled glucose. *J Physiol (Lond.)* 1964; 170:1-20.
88. Gottesman I, Mandarino L, Gerich J. Estimation and kinetic analysis of insulin-independent glucose uptake in human subjects. *Am J Physiol* 1983; 244:E632-E635.
89. Elbrink J, Bihler I. Membrane transport: its relation to cellular metabolic rates. *Science* 1975; 188:1177-1184.
90. Gottesman I, Mandarino L, Verdonk C, Rizza R, Gerich J. Insulin increases the maximal velocity for glucose uptake without altering the Michaelis constant in man: evidence that insulin increases glucose uptake merely by providing additional transport sites. *J Clin Invest* 1982; 70:1310-1314.
91. Levine R, Goldstein MS, Huddleston B, Klein SP. Action of insulin on the 'permeability' of cells to free hexoses, as studied by its effect on the distribution of galactose. *Am J Physiol* 1950; 163:70-76.



92. Pedersen O, Hjøllund E, Lindskov HO. Insulin binding and action in fat cells from young healthy females and males. *Am J Physiol* 1982; 243:E158-E167.
93. Pedersen O, Gliemann J. Hexose transport in human adipocytes: factors influencing the response to insulin and kinetics of methylglucose and glucose transport. *Diabetologia* 1981; 20:630-635.
94. Fink RI, Kolterman OG, Kao M, Olefsky JM. The role of the glucose transport system in the postreceptor defect in insulin action associated with human aging. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 58:721-725.
95. Ludvigsen C, Jarett L. A comparison of basal and insulin stimulated glucose transport in rat adipocyte plasma membranes. *Diabetes* 1980; 29:373-378.
96. Morgan H, Whitfield C. Regulation of glucose transport in eukaryotic cells. *Curr Top Membr Transport* 1973; 4:255-303.
97. Baldwin S, Lienhard G. Glucose transport across plasma membranes; facilitated diffusion systems. *Trends Biochem Sci* 1981; 6:208-211.
98. Cushman S, Wardzala L. Potential mechanisms of insulin action on glucose transport in the isolated rat adipose cell. *J Biol Chem* 1980; 255:4758-4762.
99. Ciaraldi T, Kolterman O, Siegal J, Olefsky J. Insulin stimulated glucose transport in human adipocytes. *Am J Physiol* 1979; 236:E621-E625.
100. Karnieli E, Hissin P, Simpson I, Salans L, Cushman S. A possible mechanism of insulin resistance in the rat adipose cell in streptozotocin-induced diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1981; 68:811-814.
101. Le Fèvre PG. Transport of carbohydrates by animal cells. In Greenberg DM (ed): *Metabolic transport*. New York, Acad Press, 1972, vol 6, Ch 11, pp 385-454.
102. Kolterman OG, Insel J, Saekow M, Olefsky JM. Mechanisms of insulin resistance in human obesity. Evidence for receptor and post-receptor defects. *J Clin Invest* 1980; 65:1273-1284.
103. Crofford OB, Renold AE. Glucose uptake by incubated rat epididymal adipose tissue. Rate limiting steps and site of insulin action. *J Biol Chem* 1965; 240:14-21.
104. Maegawa H, Kobayashi M, Watanabe N, Ishibashi O, Takata Y, Kitamura E, Shigeta Y. Effect of duration of diabetic state on insulin action in isolated rat soleus muscles. *Metabolism* 1986; 35:499-504.
105. Foley JE, Foley R, Gliemann J. Rate-limiting step of 2-deoxyglucose uptake in rat adipocytes. *Biochim Biophys Acta* 1980; 599:689-698.
106. Gliemann J, William DR, Foley JE. The fate of labeled glucose molecules in rat adipocytes: Dependence on glucose concentration. *Biochim Biophys Acta* 1984; 804:68-76.
107. Ploug T, Galbo H, Richter EA. Increased muscle glucose uptake during contractions: no need for insulin. *Am J Physiol* 1984; 247:E726-E731.
108. Howard B, Mott D, Fields R, Bennett P. Insulin stimulation of glucose entry in cultured human fibroblasts. *J Cell Physiol* 1979; 101:129-138.
109. LeMarchand-Brustel Y, Freychet P. Effect of fasting and streptozotocin diabetes on insulin binding and action in the isolated mouse soleus muscle. *J Clin Invest* 1979; 64:1505-1515.
110. Lund-Andersen H. Transport of glucose from blood to brain. *Physiol Rev* 1979; 59:305-352.
111. Morgan HE, Henderson MJ, Regan DM, Park CR. Regulation of glucose uptake in muscle. I. The effect of insulin and anoxia on glucose transport and phosphorylation in the isolated perfused hearts of normal rats. *J Biol Chem* 1960; 236:253-261.
112. Kono T, Barham FW. The relation between the insulin binding capacity of fat cells and the cellular response to insulin: studies with intact and trypsin-treated fat cells. *J Biol Chem* 1971; 246:6210-6216.
113. Olefsky JM. Insulin resistance and insulin action. An in vitro and in vivo perspective. (Lilly lecture 1980). *Diabetes* 1981; 30:148-162.
114. Kobayashi M, Olefsky JM, Elders J, Mako ME, Given BD, Schedwie HK, Fiser RH, Hintz RL, Horner JA, Rubenstein AH. Insulin resistance due to a defect distal to the insulin receptor (demonstration in a patient with Leprechaunism). *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75:3469-3473.



115. Marshall S, Olefsky JM. Effects of insulin incubation on insulin binding, glucose transport and insulin degradation by isolated rat adipocytes: evidence for hormone-induced desensitization at the receptor and post-receptor level. *J Clin Invest* 1980; 66:763-772.
116. Olefsky JM. Mechanisms of decreased insulin responsiveness of large adipocytes. *Endocrinology* 1977; 100:1169-1177.
117. Richardson DK, Czech MP. Primary role of decreased fatty acid synthesis in insulin resistance of large rat adipocytes. *Am J Physiol* 1978; 234:E182-E189.
118. LeMarchand-Brustel Y, Jeanrenaud B, Freychet P. Insulin binding and effects in isolated soleus muscle of lean and obese mice. *Am J Physiol* 1978; 234:E348-E358.
119. Kipnis DM, Cori CF. Studies of tissue permeability. V. The penetration and phosphorylation of 2-deoxyglucose in the rat diaphragm. *J Biol Chem* 1959; 234:171-177.
120. Morgan HE, Cadenas E, Regen DM, Park CR. Regulation of glucose uptake in muscle. II. Rate-limiting steps and effects of insulin and anoxia in heart muscle from diabetic rats. *J Biol Chem* 1961; 236:262-268.
121. Kobayshi M, Olefsky JM. Effects of streptozotocin-induced diabetes on insulin binding, glucose transport, and intracellular glucose metabolism in isolated rat adipocytes. *Diabetes* 1979; 28:87-95.
122. Kobayshi M, Olefsky JM. Long-term regulation of adipocyte glucose transport capacity by circulating insulin in rats. *J Clin Invest* 1978; 62:73-81.
123. Del Prato S, Nosadini R, Tiengo A, Tessari P, Avogaro A, Trevisan R, Valerio A, Muggeo M, Cobelli C, Toffolo G. Insulin-mediated glucose disposal in type I diabetes: Evidence for insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 57:904-910.
124. Olefsky JM, Reaven GM. Insulin binding in diabetes: relationships with plasma insulin levels and insulin sensitivity. *Diabetes* 1977; 26:680-688.
125. Richter EA, Garetto LP, Goodman MN, Ruderman NB. Muscle glucose metabolism following exercise in the rat. Increased sensitivity to insulin. *J Clin Invest* 1982; 69:785-793.
126. Richter EA, Garetto LP, Goodman MN, Ruderman NB. Enhanced muscle glucose metabolism following exercise: modulation by local factors. *Am J Physiol* 1984; 246:E476-E482.
127. Garetto LP, Richter EA, Goodman MN, Ruderman NB. Enhanced muscle glucose metabolism after exercise in the rat: the two phases. *Am J Physiol* 1984; 246:E471-E475.
128. Fell RD, Terblanche SE, Ivy JL, Young JC, Holloszy JO. Effect of muscle glycogen content on glucose uptake following exercise. *J Appl Physiol* 1982; 52:434-437.
129. Kruszynska YT, Home PD, Alberti KGMM. Insulin insensitivity and skeletal muscle enzyme activities in response to overinsulinization in the rat. *Metabolism* 1987; 36:281-285.
130. Hultman E, Bergstrom J, Roch-Norlund E. Glycogen storage in human muscle. In Pernow, Saltin B (eds.): *Muscle metabolism during exercise*. New York, Plenum Press, 1971, pp 273-288.
131. Mott DM, Lillioja S, Bogardus C. Overnutrition induced decrease in insulin action for glucose storage: in vivo and in vitro in man. *Metabolism* 1986; 35:160-165.
132. Hornbrook KR. Synthesis of liver glycogen in starved alloxan diabetic rats. *Diabetes* 1970; 19:916-923.
133. Whitton PD, Hems DA. Glycogen synthesis in the perfused liver of streptozotocin-diabetic rats. *Biochem J* 1975; 150:143-165.
134. Langdon DR, Cumow RT. Impaired glycogenic substrate activation of glycogen synthase is associated with depressed synthase phosphatase activity in diabetic rat liver. *Diabetes* 1983; 32:1134-1140.
135. Margolis RN, Selawry HP, Cumow RT. Regulation of hepatic glycogen metabolism: effects of diabetes, insulin infusion, and pancreatic islet transplantation. *Metabolism* 1985; 34:62-68.
136. Bishop JS. Inability of insulin to activate liver glycogen transferase D phosphatase in the diabetic pancreatectomized dog. *Biochim Biophys Acta* 1970; 208:208-218.
137. Miller TB, Lerner J. Mechanism of control of hepatic glycogenesis by insulin. *J Biol Chem* 1973; 248:3483-3488.
138. Gold AH. The effect of diabetes and insulin on liver glycogen synthetase activation. *J Biol Chem* 1970; 245:903-905.

139. Villar-Palasi C, Larnier J. Glycogen metabolism and glycolytic enzymes. *Annu Rev Biochem* 1970; 39:639-672.
140. Bogardus C, Thuillez P, Ravussin E, Vasquez B, Narimga M, Azhar S. Effect of muscle glycogen depletion in in vivo insulin action in man. *J Clin Invest* 1983; 72:1605-1610.
141. Bogardus C, Lillioja S, Stone K, Mott DM. Correlation between muscle glycogen synthase activity and in vivo insulin action in man. *J Clin Invest* 1984; 73:1185-1190.
142. Evans DJ, Murray R, Kissebah AH. Relationship between skeletal muscle insulin resistance, insulin-mediated glucose disposal, and insulin binding: effects of obesity and body fat topography. *J Clin Invest* 1984; 74:1515-1525.
143. Bollen M, Hue L, Stalmans W. Effects of glucose on phosphorylase and glycogen synthase in hepatocytes from diabetic rats. *Biochem J* 1983; 210:783-787.
144. Kruszynska YT, Home PD, Alberti KGMM. In vivo regulation of liver and skeletal muscle glycogen synthase activity by glucose and insulin. *Diabetes* 1986; 35:662-667.
145. Niemeyer H, Pérez N, Codoceo R. Liver glucokinase induction in acute and chronic insulin insufficiency in rats. *J Biol Chem* 1967; 242:860-864.
146. Niemeyer H, Ureta T, Clark-Turri L. Adaptive character of liver glucokinase. *Mol Cell Biochem* 1975; 6:109-126.
147. Stanbury JB ed. In: *The metabolic basis of inherited disease*. 5th ed. Mc Graw-Hill Book Comp. New York 1983. p 143.
148. Bernard C. *Arch Gen Med* (4th Ser.). De l'origine du sucre dans l'economie animale (1). 1848; 18:303-319.
149. DiPietro DL, Weinhouse S. Hepatic glucokinase in the fed, fasted, and alloxan-diabetic rat. *J Biol Chem* 1960; 235:2542-2545.
150. Salas J, Salas M, Vinuela E, Sols A. Glucokinase of rabbit liver. Purification and properties. *J Biol Chem* 1965; 240:1014-1018.
151. Walker DG, Rao S. The role of glucokinase in the phosphorylation of glucose by rat liver. *Biochem J* 1964; 90:360-368.
152. Zorano A, Balon TW, Goodman MN, Ruderman NB. Glycogen depletion and increased insulin sensitivity and responsiveness in muscle after exercise. *Am J Physiol* 1986; 251:E664-E669.
153. Thiebaud D, Jacot E, DeFronzo RA, Maeder E, Jéquier E, Felber J-P. The effect of graded doses of insulin on total glucose uptake, glucose oxidation, and glucose storage in man. *Diabetes* 1982; 31:957-963.
154. Yki-Järvinen H, Helve E, Koivisto V. Hyperglycemia decreases glucose uptake in type I diabetes. *Diabetes* 1987; 36:892-896.
155. Soskin S, Levine R. A relationship between the blood sugar level and the rate of sugar utilization, affecting the theories of diabetes. *Am J Physiol* 1937; 120:761-770.
156. Cherrington A, Williams P, Harris M. Relationship between the plasma glucose level and glucose uptake in the conscious dog. *Metabolism* 1978; 27:787-791.
157. Bergman RN, Ider IZ, Bowden CR, Cobelli C. Quantitative estimation of insulin sensitivity. *Am J Physiol* 1979; 236:E667-E677.
158. Ader M, Pacini G, Yang YJ, Bergman RN. Importance of glucose per se to intravenous glucose tolerance. Comparison of the minimal-model prediction with direct measurements. *Diabetes* 1985; 34:1092-1103.
159. Lerner RL, Porte Jr. D. Relationships between intravenous glucose loads, insulin responses and glucose disappearance rate. *J Clin Endocrinol Metab* 1971; 33:409-417.
160. Cherrington AD, Chiason JL, Liljenquist JE, Jennings AS, Keller V, Lacy WW. The role of insulin and glucagon in the regulation of basal glucose production in the postabsorptive dog. *J Clin Invest* 1976; 58:1407-1418.
161. Cherrington AD, Lacy WW, Chiason JL. Effect of glucagon on glucose production during insulin delivery in dog. *J Clin Invest* 1978; 62:664-677.
162. Cherrington AD, Vranic M. Role of glucagon and insulin in control of glucose turnover. *Metabolism* 1971; 20:625-628.
163. Liljenquist JE, Mueller AD, Cherrington AD, Perry JM, Rabinowitz D. Hyperglycemia per se (insulin and glucagon withdrawn) can inhibit hepatic glucose production in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 48:171-175.

164. Porte Jr. D, Pupo AA. Insulin responses to glucose: evidence for a two pool system in man. *J Clin Invest* 1969; 48:2309–2319.
165. Reaven GM, Olefsky JM. Relationship during insulin response during the intravenous glucose tolerance test, rate of fractional glucose removal and the degree of insulin resistance in normal adults. *Diabetes* 1974; 23:454–459.
166. Bergman RN, Finegood DT, Ader M. Assessment of insulin sensitivity in vivo. *Endocr Rev* 1985; 6:45–86.
167. Saccà L, Cryer PE, Sherwin RS. Blood glucose regulates the effects of insulin and counter-regulatory hormones on glucose production in vivo. *Diabetes* 1979; 28:533–536.
168. McCraw EF, Peterson MJ, Ashmore J. Autoregulation of glucose metabolism in the isolated rat liver. *Proc Soc Exp Biol Med* 1967; 126:232–236.
169. Glinsmann WH, Hern EP, Lynch A. Intrinsic regulation of glucose output by rat liver. *Am J Physiol* 1969; 216:698–703.
170. Bergman R. Integrated control of hepatic glucose metabolism. *Fed Proc* 1977; 36:265–270.
171. Saccà L, Hendler R, Sherwin RS. Hyperglycemia inhibits glucose production in man independent of changes in glucoregulatory hormones. *J Clin Endocrinol Metab* 1978; 47:1160–1163.
172. Landau B, Leonards J. Significance of changes in blood glucose specific activity following insulin administration. *Am J Physiol* 1960; 198:793–796.
173. Axelrod J, Weinschboum R. Catecholamines. *N Engl J Med* 1972; 287:237–242.
174. Bolli G, DeFeo P, Periello G, DeCosmo S, Ventura M, Campbell P, Brunetti P, Gerich J. Role of hepatic autoregulation in defence against physiologic hypoglycemia in humans. *J Clin Invest* 1985; 75:1623–1637.
175. Bolli GM, DeFeo P, Periello G, DeCosmo S, Ventura M, Campbell P, Brunetti P, Gerich J. Hepatic autoregulation: an important mechanism during severe hypoglycemia in man. *Clin Res* 1985; 33:568A (Abstract).
176. Bergman R, Bucolo R. Interaction of insulin and glucose in the control of hepatic glucose balance. *Am J Physiol* 1974; 227:1314–1322.
177. Shulman G, Liljenquist J, Williams P, Lacy W, Cherrington A. Glucose disposal during insulinopenia in somatostatin-treated dogs: the roles of glucose and glucagon. *J Clin Invest* 1978; 62:487–491.
178. Sacca L, Cicala M, Trimarco B, Ungaro B, Vigorito C. Differential effects of insulin on splanchnic and peripheral glucose disposal after an intravenous glucose load in man. *J Clin Invest* 1982; 70:117–126.
179. Verdonk C, Rizza R, Gerich J. Effects of plasma glucose concentration on glucose utilization and glucose clearance in normal man. *Diabetes* 1981; 30:535–537.
180. Best J, Taborsky G, Halter J, Porte D. Glucose disposal is not proportional to plasma glucose level in man. *Diabetes* 1981; 30:847–850.
181. Lewis S, Schultz T, Westbie D, Gerich J, Walin J. Insulin–glucose dynamics during flow through perfusion of the isolated rat hind limb. *Horm Metab Res* 1977; 9:190–195.
182. Hansen IL, Cryer PE, Rizza RA. Comparison of insulin-mediated and glucose-mediated glucose disposal in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and in nondiabetic subjects. *Diabetes* 1985; 34:751–755.
183. Hansen I, Firth R, Haymond M, Cryer P, Rizza R. The role of autoregulation of the hepatic glucose production in man. Response to a physiologic decrement in plasma glucose. *Diabetes* 1986; 35:186–191.
184. Bell PM, Firth RG, Rizza RA. Effects of hyperglycemia on glucose production and utilization in humans. Measurement with [ $^3\text{H}$ ]-, [ $^3\text{H}$ ]-, and [ $^{14}\text{C}$ ]glucose. *Diabetes* 1986; 35:642–648.
185. Ishiwata K, Hetenyi G, Vranic M. Effect of D-glucose or D-ribose on the turnover of glucose in pancreatectomized dogs maintained on a matched intraportal infusion of insulin. *Diabetes* 1969; 18:820–827.
186. Proietto J, Nankervis A, Aitken P, Caruso G, Alford F. Glucose utilisation in type I (insulin dependent) diabetes: evidence for a defect not reversible by acute elevations of insulin. *Diabetologia* 1983; 25:331–335.

187. Garber AJ, Cryer PE, Santiago JV, Haymond MW, Pagliara AS, Kipnis DM. The role of adrenergic mechanisms in the substrate and hormonal response to insulin-mediated hypoglycemia in man. *J Clin Invest* 1976; 58:7-15.
188. Rizza R, Cryer P, Gerich J. Role of glucagon, catecholamines, and growth hormone in human glucose counterregulation: effects of somatostatin and combined alfa and beta adrenergic blockade on plasma glucose recovery and glucose flux rates after insulin-induced hypoglycemia. *J Clin Invest* 1979; 64:62-71.
189. Davidson M. Autoregulation by glucose of hepatic glucose balance: permissive effect of insulin. *Metabolism* 1981; 30:279-284.
190. Ruderman N, Herrera M. Glucose regulation of hepatic gluconeogenesis. *Am J Physiol* 1968; 214:1346-1351.
191. Wu MS, Ho LT, Chen JJ, Chen Y-DI, Reaven GM. Somatostatin potentiation of insulin-induced glucose uptake in normal individuals. *Am J Physiol* 1986; 14:E674-E679.
192. Hers HG. The control of glycogen metabolism in the liver. *Annu Rev Biochem* 1976; 45:167-189.
193. Stalmans W, Laloux M, Hers H-G. The interaction of liver phosphorylase a with glucose and AMP. *Eur J Biochem* 1974; 49:415-427.
194. Mulmed LN, Gannon MC, Bible DP, Tan AWH, Nuttall FQ. Glycogen synthase, synthase phosphorylase and phosphorylase response to glucose in somatostatin-pretreated rats. *Diabetes* 1979; 28:231-236.
195. Buschiazio H, Exton JH, Park CR. Effects of glucose on glycogen synthetase, phosphorylase, and glycogen deposition in the perfused rat liver. *Proc Natl Acad Sci* 1970; 65:383-387.
196. Nuttall F, Theen J, Niewoehner C, Gilboe D. Response of liver glycogen synthetase and phosphorylase to in vivo glucose and glucose analogues. *Am J Physiol* 1983; 245:E521-E527.
197. Steiner DF, King J. Induced synthesis of hepatic UDPG glycogen glucosyl transferase after administration of insulin to diabetic rats. *J Biol Chem* 1964; 239:1292-1298.
198. Salas ME, Vinuela E, Sols A. Insulin-dependent synthesis of liver glucokinase in the rat. *Biol Chem* 1963; 238:3535-3538.
199. Lager I, Blohmé G, von Schenk H, Smith U. Importance of glucose control for the recovery of hypoglycemia in insulin-dependent diabetics. *Diabetes* 1982; 31:771-775.
200. Olefsky JM, Sackow M. The effects of dietary carbohydrate content on insulin binding and glucose metabolism by isolated rat adipocytes. *Endocrinology* 1978; 103:2252-2263.
201. Olefsky J, Farquar J, Reaven GM. Relationship between fasting plasma insulin level and the resistance to insulin-mediated glucose uptake in normal and diabetic subjects. *Diabetes* 1973; 22:507-513.
202. Kahn C. Insulin resistance, insulin insensitivity, and insulin unresponsiveness: a necessary distinction. *Metabolism* 1978; 27:1893-1902.
203. Doberne L, Greenfield S, Schulz B, Reaven GM. Enhanced glucose utilization during prolonged glucose clamp studies. *Diabetes* 1981; 30:829-835.
204. Himsworth HP, Kerr RB. Insulin sensitive and insulin insensitive types of diabetes mellitus. *Clin Sci* 1939; 4:119-152.
205. DeFronzo RA, Hendler R, Simonson D. Insulin resistance is a prominent feature of insulin-dependent diabetes. *Diabetes* 1982; 31:795-801.
206. Martin FIR, Stocks AE. Insulin sensitivity and <sup>131</sup>I-insulin metabolism in juvenile-type diabetics. *Aust Ann Med* 1967; 16:289-296.
207. Ginsberg HN. Investigation of insulin sensitivity in treated subjects with ketosis prone diabetes mellitus. *Diabetes* 1977; 26:278-283.
208. Harano Y, Ohgaku S, Hidaka H, Haneda K, Kikkawa R, Shigeta Y, Abe H. Glucose, insulin and somatostatin infusion for determination of insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 1977; 45:1124-1127.
209. Harano Y, Ohgaku S, Kosugi K, Yashuda H, Nakano T, Kobayashi M, Hidaka H, Izumi K, Kashiwagi A, Shigeta Y. Clinical significance of altered insulin sensitivity in diabetes mellitus assessed by glucose, insulin, and somatostatin infusion. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 52:982-987.



210. Martin FIR, Hopper JL. The relationship of acute insulin sensitivity to the progression of vascular disease in long-term type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1987; 30:149–153.
211. Yki-Järvinen H, Helve E, Laatikainen L, Karonen S-L, Koivisto VA. No association between retinopathy and insulin resistance in type I diabetes. *Acta Endocrinologica* 1986; 111:522–527.
212. Maneschi F, Mashiter K, Kohner EM. Insulin resistance and insulin deficiency in diabetic retinopathy of non-insulin-dependent diabetes. *Diabetes* 1983; 32:82–87.
213. Permet A, Trimble ER, Kuntschen F, Damoiseaux P, Assal J-P, Hahn C, Renold AE. Insulin resistance in type I (insulin-dependent) diabetes: Dependence on plasma insulin concentration. *Diabetologia* 1984; 26:255–260.
214. Bogardus C, Lillioja S, Howard B, Reaven G, Mott D. Relationship between insulin secretion, insulin action, and fasting plasma glucose concentration in non-diabetic and non-insulin-dependent diabetic subjects. *J Clin Invest* 1984; 74:1238–1246.
215. Yki-Järvinen H, Taskinen M-R, Kiviluoto T, Hilden H, Helve E, Koivisto VA, Nikkilä E. Site of insulin resistance in type I diabetes: Insulin-mediated glucose disposal in vivo in relation to insulin binding and action in adipocytes in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 59:1183–1192.
216. Revers RR, Kolterman OG, Scarlett JA, Stuart Gray R, Olefsky JM. Lack of in vivo insulin resistance in controlled insulin dependent, type I, diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 58:353–358.
217. Olefsky JM, Crapo PA, Ginsberg H, Reaven GM. Metabolic effects of increased caloric intake in man. *Metabolism* 1975; 24:495–503.
218. Zinman B, Stokes EF, Albisser AM. The metabolic response to glycemic control by the artificial pancreas in diabetic man. *Metabolism* 1979; 28:511–518.
219. Frazee E, Donner CC, Swislocki ALM, Chiou Y-AM, Chen Y-DI, Reaven GM. Ambient plasma free fatty acid concentrations in noninsulin-dependent diabetes mellitus: Evidence for insulin resistance. *Metabolism* 1985; 61:807–811.
220. Kashiwagi A, Verso MA, Andrews J, Vasquez B, Reaven G, Foley JE. In vitro insulin resistance of human adipocytes isolated from subjects with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1983; 72:1246–1254.
221. Trevisan R, Nosadini R, Avogaro A, Lippe G, Du Ner E, Fioretto P, Deana R, Tessari P, Tiengo A, Velussi M, Cernigoi A, Del Prato S, Crepaldi C. Type I diabetes is characterized by insulin resistance not only with regard to glucose, but also to lipid and aminoacid metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62:1155–1162.
222. Marangou AG, Weber KM, Boston RC, Aitken PM, Heggie JCP, Kirsner RLG, Best JD, Alford FP. Metabolic consequences of prolonged hyperinsulinemia in humans. *Diabetologia* 1986; 35:1383–1389.
223. Lang DA, Matthews DR, Peto J, Turner RC. Cyclic oscillations of basal plasma glucose and insulin concentrations in human beings. *N Eng J Med* 1979; 301:1023–1027.
224. Lang DA, Matthews DR, Burnett M, Turner RC. Brief irregular oscillations of basal plasma insulin and glucose concentrations in diabetic man. *Diabetes* 1981; 30:435–439.
225. Schmitz O, Arnfred J, Hother Nielsen O, Beck-Nielsen H, Ørskov H. Glucose uptake and pulsatile insulin infusion: euglycaemic clamp and [ $^3\text{H}$ ]glucose studies in healthy subjects. *Acta Endocrinol* 1986; 113:559–563.
226. Brattusch-Marrain P, Komjati M, Waldhäusl K. Efficacy of pulsatile versus continuous insulin administration on hepatic glucose production and glucose utilisation in insulin dependent man. *Diabetes* 1986; 35:922–926.
227. Komjati M, Brattusch-Marrain PR, Waldhäusl W. Superior efficacy of pulsatile versus continuous hormone exposure on hepatic glucose production in vitro. *Endocrinology* 1986; 118:312–319.
228. Levy-Marchal C, Albisser AM, Zinman B. Overnight metabolic control with pulsed intermittent versus continuous insulin infusion. *Diabetes Care* 1983; 6:356–360.
229. Lang DA, Matthews DR, Burnett M, Ward GM, Turner MC. Pulsatile, synchronous basal insulin and glucagon secretion in man. *Diabetes* 1982; 31:22–26.

230. Hansen BC, Jen KLC, Pek SB, Wolfe RA. Rapid oscillations in plasma insulin, glucagon, and glucose in obese and normal weight humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54:785–792.
231. Spiliotis BE, August GP, Hung W, Sonis W, Mendelson W, Bercu BB. Growth hormone neurosecretory dysfunction: a treatable cause of short stature. *JAMA* 1984; 152:2223–2230.
232. Paolisso G, Scheen AJ, Luyckx AS, Lefebvre PJ. Pulsatile hyperglucagonemia fails to increase hepatic glucose production in normal man. *Am J Physiol* 1987; 252:E1–E7.
233. Lager I, Lönnroth P, von Schenk H, Smith U. Reversal of insulin resistance in type I diabetes after treatment with continuous subcutaneous insulin infusion. *Br Med J* 1983; 287:1661–1664.
234. Beck–Nielsen H, Richelsen B, Hasling C, Nielsen OH, Heding L, Sørensen NS. Improved in vivo insulin effect during continuous subcutaneous insulin infusion in patients with IDDM. *Diabetes* 1984; 33:832–837.
235. Yki-Järvinen H, Koivisto VA. Continuous subcutaneous insulin infusion therapy decreases insulin resistance in type I diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 58:659–666.
236. Connor H, Atkin G, Attwood E. Short-term control of brittle diabetes using a Biostator. *Br Med J* 1982; 285:1316–1317.
237. Greenfield MS, Doberne L, Rosenthal M, Schulz B, Widstrom A, Reaven GM. Effect of sulfonurea treatment on in vivo insulin secretion and action in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 1982; 31:307–312.
238. Kolterman OG, Gray RS, Shapiro G, Scarlett JA, Griffin J, Olefsky JM. The acute and chronic effects of sulfonurea therapy in type II diabetic subjects. *Diabetes* 1984; 33:346–354.
239. Simonson D, Ferranini E, Bevilacqua S, Smith D, Barrett E, Carlson R, DeFronzo RA. Mechanism of improvement in glucose metabolism after chronic glyburide therapy. *Diabetes* 1984; 33:838–845.
240. Ward G, Harrison LC, Proietto J, Aitken P, Nankervis A. Gliclazide therapy is associated with potentiation of postbinding insulin action in obese non-insulin-dependent diabetic subjects. *Diabetes* 1985; 34:241–245.
241. Garvey WT, Olefsky JM, Griffin J, Hamman RF, Kolterman OG. The effect of insulin treatment on insulin secretion and insulin action in type II diabetes mellitus. *Diabetes* 1985; 34:222–234.
242. Ginsberg H, Rayfield EJ. Effect of insulin therapy on insulin resistance in type II diabetic subjects: evidence for heterogeneity. *Diabetes* 1981; 30:739–745.
243. Scarlett JA, Gray RS, Griffin J, Olefsky JM, Kolterman OG. Insulin treatment reverses the insulin resistance of type II diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1982; 5:353–363.
244. Foley JE, Kashiwagi A, Verso MA, Reaven G, Andrews J. Improvement in in vitro insulin action after one month of insulin therapy in obese non-insulin dependent diabetics: measurements of glucose transport and metabolism, insulin binding, and lipolysis in isolated adipocytes. *J Clin Invest* 1983; 72:1901–1909.
245. Scarlett JA, Kolterman OG, Ciaraldi TP, Kao M, Olefsky JM. Insulin treatment reverses the post-receptor defect in adipocyte 3-O-methylglucose transport in type II diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 56:1195–1201.
246. Firth G, Bell PM, Rizza RA. Effects of tolazamide and exogenous insulin on insulin action in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Eng J Med* 1986; 314:1280–1286.
247. Rosenthal M, Haskell WL, Solomon R, Widstrom A, Reaven GM. Demonstration of a relationship between level of physical training and insulin-stimulated glucose utilization in normal humans. *Diabetes* 1983; 32:408–411.
248. Zorano A, Balon TW, Garetto LP, Goodman MN, Ruderman NB. Muscle  $\alpha$ -isobutyric acid transport after exercise: enhanced stimulation by insulin. *Am J Physiol* 1985; 248:E546–E552.
249. Bonen A, Tan MH, Clune P, Kirby RL. Effects of exercise on insulin binding to human muscle. *Am J Physiol* 1985; 11:E403–E408.

250. Bonen A, Tan Mh, Watson-Wright WM. Effects of exercise on insulin binding and glucose metabolism in muscle. *Can J Physiol Pharmacol* 1984; 62:1500–1504.
251. Rodnick K, Swislocki A, Foley J, Reaven GM. Effect of exercise training on in vivo and in vitro glucose uptake in humans. *Clin Res* 1986; 34:105A.
252. Rouselle J, Bückert A, Pahud P, Jéquier E, Felber JP. Relationship between glucose oxidation and glucose tolerance in man. *Metabolism* 1982; 31:866–870.
253. Lillioja S, Mott DM, Zawadzki JK, Young AA, Abott WG, Bogardus C. Glucose storage is a major determinant of in vivo 'insulin resistance' in subjects with normal glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62:922–927.
254. James DE, Jenkins AB, Kraegen EW. Heterogeneity of insulin action in individual muscles in vivo: euglycemic clamp studies in rats. *Am J Physiol* 1985; 11:E567–E574.
255. Jacot E, DeFronzo RA, Jéquier E, Maeder E, Felber J-P. The effect of hyperglycemia, hyperinsulinemia, and route of glucose administration on glucose oxidation and glucose storage. *Metabolism* 1982; 31:922–930.
256. Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. The glucose fatty acid cycle: Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* 1963; i:785–789.
257. Rennie MJ, Holloszy JO. Inhibition of glucose uptake and glycogenolysis by availability of oleate in well-oxygenated perfused skeletal muscle. *Biochem J* 1977; 168:161–170.
258. Felber JP, Meyer HU, Curchod B, Iselin HU, Rouselle J, Maeder E, Pahud E, Jéquier E. Glucose storage and oxidation in different degrees of human obesity measured by continuous indirect calorimetry. *Diabetologia* 1981; 20:39–44.
259. Boden G, Ray TK, Smith RH, Owen OE. Carbohydrate oxidation and storage in obese non-insulin dependent diabetic patients. *Diabetes* 1983; 32:982–987.
260. Kruszynska YT, Petranyi G, Home PD, Taylor R, Alberti KGMM. Muscle enzyme activity and insulin sensitivity in type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1986; 29:699–705.
261. DeFronzo RA, Ferrannini E, Hendler R, Wahren J, Felig P. Influence of hyperinsulinemia, hyperglycemia, and the route of glucose administration on splanchnic glucose exchange. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75:5173–5177.
262. Hom FG, Goodner CJ. Insulin dose-response characteristics among individual muscle and adipose tissues measured in the rat in vivo with (<sup>3</sup>H) 2-deoxyglucose. *Diabetes* 1984; 33:153–159.
263. Chen Y-DI, Golay A, Swislocki ALM, Reaven GM. Resistance to insulin suppression of plasma free fatty acid concentrations and insulin stimulation of glucose uptake in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64:17–21.
264. Reaven GM, Chen Y-DI, Golay A, Swislocki ALM. Documentation of hyperglucagonemia throughout the day in nonobese and obese patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64:106–110.
265. Caron D, Poussier P, Marliss EB, et al. The effect of postprandial exercise on meal-related glucose intolerance in insulin dependent diabetic individuals. *Diabetes Care* 1982; 5:364–369.
266. Newsholme EA, Randle PJ. Regulation of glucose uptake by muscle. I. Effects of fatty acids, ketone bodies and pyruvate, and of alloxan, diabetes, starvation, hypophysectomy and adrenalectomy on the concentrations of hexose phosphates, nucleotides and inorganic phosphate in the perfused rat heart. *Biochem J* 1964; 93:641–651.
267. Randle PJ, Newsholme EA, Garland PB. Regulation of glucose uptake by muscle. 8. Effects of fatty acids, ketone bodies and pyruvate, and of alloxan, diabetes and starvation, on the uptake and metabolic fate of glucose in rat heart and diaphragm muscles. *Biochem J* 1964; 93:652–665.
268. Thiébaud D, DeFronzo RA, Jacot E, Golay A, Acheson K, Maeder E, Jéquier E, Felber J-P. Effect of long chain triglyceride infusion on glucose metabolism in man. *Metabolism* 1982; 31:1128–1136.
269. Ferrannini E, Barrett E, Bevilacqua S, DeFronzo R. Some interactions of free fatty acids on glucose metabolism in man. *Diabetologia* 1981; 21:270A.

270. Havel RJ, Carlson LA. Comparative turnover rates of free fatty acid and glycerol in blood of dogs under various conditions. *Life Sci* 1963; 2:651–658.
271. Jungas RL, Ball EG. Studies on the metabolism of adipose tissue. XII. The effects of insulin and epinephrine on free fatty acid and glycerol production in the presence and absence of glucose. *Biochemistry* 1963; 2:383–388.
272. Wolfe RR, Peters EJ. Lipolytic response to glucose infusion in human subjects. *Am J Physiol* 1987; 252:E218–E223.
273. Balasse EO, Neef MA. Influence of nicotinic acid on the rates of turnover and oxidation of plasma glucose in man. *Metabolism* 1973; 22:1193–1204.
274. Kolterman OG, Gray RS, Griffin J, Burstein P, Insel J, Scarlett JA, Olefsky JM. Receptor and postreceptor defects contribute to the insulin resistance in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1981; 68:957–969.
275. DeFronzo R, Ferrannini E. Influence of plasma glucose and insulin concentration on plasma glucose clearance in man. *Diabetes* 1982; 32:683–688.
276. Rizza R, Mandarino L, Gerich J. Dose-response characteristics for the effects of insulin on production and utilization of glucose in man. *Am J Physiol* 1981; 240:E630–E639.
277. Unger RH. The role of glucagon in the pathogenesis of diabetes: the status of controversy. *Metabolism* 1978; 27:1691–1709.
278. Best J, Beard J, Taborsky G, Halter J, Porte D. Effect of hyperglycemia per se on glucose disposal and clearance in non-insulin-dependent diabetics. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 56:819–823.
279. Pacini G, Finegood D, Bergman RA. A minimal model based glucose clamp yielding insulin sensitivity independent of glycemia. *Diabetes* 1982; 31:432–441.
280. Best JD, Taborsky Jr. GJ, Halter JB, Porte Jr. D. Glucose disposal is not proportional to plasma glucose level in man. *Diabetes* 1981; 30:847–850.
281. Olefsky JM, Kobayashi M. Ability of circulating insulin to chronically regulate the cellular glucose transport system. *Metabolism* 1978; 27:1917–1929.
282. Crone C. Facilitated transfer of glucose from blood into brain tissue. *J Physiol (Lond.)* 1965; 181:103–113.
283. Hertz MM, Paulson OB, Barry DI, Christiansen JS, Svendsen PA. Insulin increases glucose transfer across the blood-brain barrier in man. *J Clin Invest* 1981; 67:597–604.
284. Proietto J, Nankervis A, Aitken P, Caruso G, Harewood M, Alford FP. The physiologic action of insulin on glucose uptake and its relevance to the interpretation of the metabolic clearance rate of glucose. *Metabolism* 1983; 32:1022–1028.
285. Davis BM, Bernstein R, Kolterman R, Olefsky JM, Reaven GM. Defect in glucose removal in nonketotic patients with fasting hyperglycemia. *Diabetes* 1979; 28:32–34.
286. Olefsky J. Mechanisms of the ability of insulin to activate the glucose-transport system in rat adipocytes. *Biochem J* 1979; 254:5276–5283.
287. Berhanu P, Olefsky J. Effects of insulin and insulin-like agents on the glucose transport system of cultured human fibroblasts. *Diabetes* 1981; 30:523–529.
288. Hom FG, Goodner CJ, Berrie MA. A (<sup>3</sup>H)2-deoxyglucose method for comparing rates of glucose metabolism and insulin responses among rat tissues in vivo. Validation of the model and the absence of an insulin effect on brain. *Diabetes* 1984; 33:141–152.
289. Baron AD, Wallace P, Olefsky JM. In vivo regulation of non-insulin mediated glucose uptake (NIMGU) and insulin mediated glucose uptake (IMGU) by epinephrine (EPI). *Clin Res* 1986; 34:102A.
290. Ferrannini E, DeFronzo R, Sherwin R. Transient hepatic response to glucagon in man: role of insulin and hyperglycemia. *Am J Physiol* 1982; 242:E73–E81.
291. Ciaraldi T, Kolterman O, Olefsky J. Mechanism of the postreceptor defect in insulin action in human obesity. Decrease in glucose transport system activity. *J Clin Invest* 1981; 68:875–880.
292. Bucolo RJ, Bergman RN, Marrsh DJ, Yates FE. Dynamics of glucose autoregulation in the isolated, blood-perfused canine liver. *Am J Physiol* 1974; 227:209–217.
293. Bergman EN, Brockman RP, Kaufman CF. Glucose metabolism in ruminants: comparison of whole body turnover with production by gut, liver and kidneys. *Fed Proc* 1974; 33:1849–1854.



294. Baron A, Kolterman O, Bell J, Mandarino L, Olefsky J. Rates of non-insulin-mediated glucose uptake are elevated in type II diabetic subjects. *J Clin Invest* 1985; 76:1782-1788.
295. Felber P, Thiebaud D, Meader E, Jéquier E, Hendlér R, DeFronzo R. Effect of somatostatin-induced insulinopenia on glucose oxidation in man. *Diabetologia* 1983; 25:325-330.
296. Cahill G. Starvation in man. *N Engl J Med* 1970; 282:668-675.
297. Baron AD, Kolterman OG, Bell J, Mandarino LJ, Olefsky JM. Rates of non insulin mediated glucose uptake (NIMGU) are elevated in type II diabetic subjects (NIDDM). *Clin Res* 1985; 33:100A.
298. Donner CC, Frazee E, Chen Y.-DI, Reaven GM. Quantitation of insulin-stimulated glucose disposal in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 1985; 34:831-835.
299. Hjallund E, Beck-Nielsen H, Richelsen B, Schwartz-Sørensen N. Defective non-insulin-mediated and insulin-mediated glucose transport and metabolism in adipocytes from obese and lean patients with untreated type 2 diabetes mellitus. *Diabetic Medicine* 1985; 2:468-473.
300. Scheinberg P. Observations on cerebral carbohydrate metabolism in man. *Ann Intern Med* 1965; 62:367-371.
301. Eisenberg S, Seltzer H. The cerebral metabolic effects of acutely induced hypoglycemia in normal subjects. *Metabolism* 1962; 11:1162-1168.
302. Huang S, Phelps M, Hoffman E, Sideris K, Selin C, Kuhl D. Noninvasive determination of local cerebral metabolic rate of glucose in man. *Am J Physiol* 1980; 238:E69-E82.
303. Della Porte P, Maiolo AT, Negri VU, Rossella E. Cerebral blood flow and metabolism during therapeutic insulin coma. *Metabolism* 1964; 13:131-140.
304. Kety SS, Woodford RB, Harmel MH, Freyhan FA, Appel KE, Schmidt CF. Cerebral blood flow and metabolism in schizophrenia: the effects of barbiturate semi-narcosis, insulin coma and electroshock. *Am J Psychiatry* 1948; 104:765-770.
305. Partridge WM. Brain metabolism: a perspective from the blood-brain barrier. *Physiol Rev* 1983; 63:1481-1535.
306. Bachelard HS. Specificity and kinetic properties of monosaccharide uptake into guinea pig cerebral cortex in vitro. *J Neurochem* 1971; 18:213-222.
307. Buschiazzi PM, Terrell EB, Regen DM. Sugar transport across the blood brain barrier. *Am J Physiol* 1970; 219:1505-1513.
308. Pappenheimer JR, Setchell BP. Cerebral glucose transport and oxygen consumption in sheep and rabbits. *J Physiol* 1973; 233:529-551.
309. Partridge WM. Transport of nutrients and hormones through the blood brain barrier. *Diabetologia* 1981; 20:246-254.
310. Cryer PE, Gerich JE. Glucose counterregulation, hypoglycemia, and intensive insulin therapy in diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1985; 313:232-241.
311. Vranic M, Kawamori R, Pek S, Kovaievic N, Wrenshall GA. The essentiality of insulin and the role of glucagon in regulating glucose utilization and production during strenuous exercise in dogs. *J Clin Invest* 1976; 57:245-255.
312. Doberne L, Greenfield M, Rosenthal M, Widstrom A, Reaven G. Effects of variations in basal plasma glucose concentration on glucose utilization (M) and metabolic clearance (MCR) rates during insulin clamp studies in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 1982; 31:396-400.
313. Revers R, Kolterman O, Olefsky J. Relationship between serum glucose level and the metabolic clearance rate of glucose in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 1983; 32:627-632.
314. Schlichtkrull J, Munck O, Jersild M. The M-value, an index of blood sugar control in diabetes. *Acta Med Scand* 1965; 177:95-102.
315. Tattersall R. Brittle diabetes. *Clin Endocrinol Metab* 1977; 6:403-419.
316. Shima K, Tanaka R, Morisha S, Tarui S, Kumahara Y, Nishikawa K. Studies on the etiology of 'brittle diabetes'. Relationship between diabetic instability and insulinogenic reserve. *Diabetes* 1977; 26:717-725.

317. Yue DK, Baxter RC, Turtle JR. C-Peptide secretion and insulin antibodies as determinants of stability in diabetes mellitus. *Metabolism* 1978; 27:35–44.
318. Yoshimasa T, Marumo K, Inoue Y, Hirata Y. C-peptide immunoreactivity and insulin content in the diabetic human pancreas and the relation to the stability of diabetic serum glucose level. *Acta Endocrinol(Copenh)* 1986; 113:355–362.
319. Lutterman JA. Labiele en stabiele insuline-afhankelijke (type I) diabetes mellitus. *Acad. Proefschrift*. 1982 Nijmegen.
320. Binder C, Faber OK. Residual beta-cell function and its metabolic consequences. *Diabetes* 1978; 27 (suppl. 1):226–229.
321. Johansen K, Hansen AP. Diurnal serum growth hormone levels in poorly and well-controlled juvenile diabetics. *Diabetes* 1971; 20:239–245.
322. Hayford JT, Danney MM, Hendrix JA, Thompson RG. Integrated concentration of growth hormone in juvenile-onset diabetes. *Diabetes* 1980; 29:391–398.
323. Baird JD, Hunter WM, Smith AWM. The relationship between human growth hormone and the development of diabetes mellitus and its complications. *Postgrad Med J* 1973; 49:132–140.
324. Sperling MA, Wollesen LV, Delamater PV. Daily production and metabolic clearance of growth hormone in juvenile diabetes mellitus. *Diabetologia* 1973; 9:380–383.
325. Hansen AP. Abnormal serum growth hormone response to exercise in juvenile diabetics. *J Clin Invest* 1970; 49:1467–1478.
326. Press M, Tamborlane WV, Sherwin RS. Importance of raised growth hormone levels in mediating the metabolic derangements of diabetes. *N Engl J Med* 1984; 310:810–815.
327. Krassas GE, Tzetzis V, Ziannas J, Faltsis S. Growth hormone and prolactin responses to TRH in unstable patients. *Acta Endocrinol* 1982; suppl. 248:42–43.
328. Panerai AE, Salerno F, Manneschi M, Cocchi D, Müller EE. Growth hormone and prolactin responses to thyrotropin-releasing hormone in patients with severe liver disease. *J Clin Endocrinol metab* 1977; 45:134–140.
329. Scobie IN, Kesson CM, Ratcliffe JG, Maccuish AC. The effects of prolonged bromocriptine administration on prolactin and GH secretion and glycaemic control in stable insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Endocrinol* 1983; 18:179–185.
330. Zadik Z, Kayna R, Kappy M, Plotnick LP, Kowarski AA. Increased integrated concentration of norepinephrine, epinephrine, aldosterone, and growth hormone in patients with uncontrolled juvenile diabetes mellitus. *Diabetes* 1980; 29:655–658.
331. Shamoan H, Hendler R, Sherwin R. Altered responsiveness to cortisol, epinephrine, and glucagon in insulin-infused juvenile-onset diabetics. A mechanism for diabetic instability. *Diabetes* 1980; 29:284–291.
332. Shamoan H, Hendler R, Sherwin RS. Synergistic interactions among antiinsulin hormones in the pathogenesis of stress-hyperglycemia in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 52; 1235–1241.
333. Sherwin RS, Fisher M, Hendler R, Felig P. Hyperglucagonemia and blood glucose regulation in normal, obese and diabetic subjects. *N Engl J Med* 1976; 294:455–461.
334. Somogyi M. Insulin as a cause of extreme hyperglycemia and instability. *Bull St Louis Med Soc* 1938; 32:489–500.
335. Somogyi M. Exacerbation of diabetes by excess insulin action. *Am J Med* 1959; 26:169–191.
336. Tjorðjman KM, Havlin CE, Levandoski LA, White NH, Santiago JV, Cryer PE. Nocturnal hypoglycemia does not cause morning hyperglycemia in patients with diabetes mellitus. *Diabetes* 1987; 36 (Suppl.1):3A.
337. Bolli GM, Gottesman IS, Campbell PJ, Haymond MW, Cryer PE, Gerich JE. Glucose counterregulation and waning of insulin in the Somogyi phenomenon (posthypoglycemic hyperglycemia). *N Engl J Med* 1984; 311:1214–1219.
338. Gale EA, Kurtz AB, Tattersall RB. In search of the Somogyi effect. *Lancet* 1980; 2:279–282.
339. Perkoff GT, Tyler FH. Paradoxal hyperglycemia in diabetic patients treated with insulin. *Metabolism Clin Exp* 1954; 3:110–117.

340. Gill GV, Walford S, Alberti KGMM. Brittle diabetes – present concepts. *Diabetologia* 1985; 28:579–589.
341. Citrin WS, Kleiman GA, Skyler JS. Emotions: a critical factor in diabetic control. In: Davidson MB (ed). *Diabetes mellitus: Diagnosis and treatment*, pp 400–419. Wiley & Sons, New York.
342. Kemmer FW, Bisping R, Steingrüber HJ, Baar H, Hardtmann F, Schlaghecke R, Berger M. Psychological stress and metabolic control in patients with type I diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1986; 314:1078–1084.
343. Helve E, Yki-Järvinen H, Koivisto VA. Smoking and insulin sensitivity in type I diabetic patients. *Metabolism* 1986; 35:874–877.
344. Toth EL, Suthijumroon A, Crockford PM, Ryan EA. Insulin action does not change during the menstrual cycle in normal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64:74–80.
345. Yki-Järvinen H. Insulin sensitivity during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 59:350–353.
346. Wilson DE. Excessive insulin therapy: biochemical effects and clinical repercussions. *Ann Int Med* 1983; 98:219–227.
347. Rosenbloom AL, Giordano BP. Chronic overtreatment with insulin in children and adolescents. *Am J Dis Child* 1977; 131:881–885.
348. Home PD, Massi-Benedetti M, Gill GV, Capaldo B, Shepherd GAA, Alberti KGMM. Impaired subcutaneous absorption of insulin in 'brittle' diabetics. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1982; 101:414–420.
349. Williams G, Pickup J, Clark, Bowcock S, Cooke E, Keen H. Changes in blood flow close to subcutaneous insulin injection sites in stable and brittle diabetics. *Diabetes* 1983; 32:466–473.
350. Roy B, Chou MCY, Field JB. Time–action characteristics of regular and NPH insulin in insulin-treated diabetics. *J Endocrinol Metab* 1980; 50:475–479.
351. Dixon K, Exon PD, Hughes HR. Insulin antibodies in aetiology of labile diabetes. *Lancet* 1972; 1:343–347.
352. Hilsted J, Madsbad S, Krarup T, Tronier B, Galbo H, Sestoft L, Schwartz TW. No response of pancreatic hormones to hypoglycemia in diabetic autonomic neuropathy. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54:815–819.
353. Jackson RL, Hardin RC, Walker GL, Hendricks AB, Kelly HG. Degenerative changes in young diabetic patients in relationship to levels of control. *Pediatrics* 1950; 29:677–684.
354. Keiding NR, Root HF, Marble A. Importance of control of diabetes in prevention of vascular complications. *J Am Med Assoc* 1952; 150:964–969.
355. Cahill GF, Etzwiler DD, Freinkel N. "Control" and diabetes. *New Engl J Med* 1976; 294:1004–1005.
356. Pirart J. Diabetes mellitus and its degenerative complications. A prospective study of 4400 patients observed between 1947 and 1973 (in two parts). *Diabetes Care* 1978; 1:168–88, 252–263.
357. Tchobroutsky G. Relation of diabetic control to development of microvascular complications. *Diabetologia* 1978; 15:143–152.
358. Pickup JC, Keen H, Parsons JA, Alberti KGMM, Rowe AS. Continuous subcutaneous insulin infusion and improved blood glucose and intermediary–metabolite control in diabetics. *Lancet* 1979; 1:1255–1258.
359. Ballegooye v. E. Continue subcutane insuline infusie. *Acad. Proefschr. Groningen* 1985.
360. Schmidt M, Hadji-Georgopoulos A, Rendell M, Margolis S, Kowarski A. The dawn phenomenon, an early morning glucose rise: implications for diabetic intraday blood glucose variation. *Diabetes Care* 1981; 5:579–585.
361. Joslin EP, Gray H, Root HF. Insulin in hospital and home. *J Metab Res* 1922; 2:651–699.
362. Winter RJ. Profiles of metabolic control in diabetic children–frequency of asymptomatic nocturnal hypoglycemia. *Metabolism* 1981; 30:666–672.
363. Campbell PJ, Bolli GB, Cryer PE, Gerich JE. Pathogenesis of the dawn phenomenon in patients with insulin-dependent diabetes mellitus: accelerated glucose production and impaired glucose utilization due to nocturnal surges in growth hormone secretion. *N Engl J Med* 1985; 312:1473–1479.

364. Skor DA, White NH, Thomas L, Santiago JV. Influence of growth hormone on overnight insulin requirements in insulin-dependent diabetes. *Diabetes* 1985; 34:135–139.
365. Meneilly GS, Elahi D, Minaker KL, Rowe JW. The dawn phenomenon does not occur in normal elderly subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 63:292–296.
366. Mauras N, Rogol AD, Clarke WL. Failure to detect the "dawn phenomenon" in nondiabetic subjects with markedly different patterns of nocturnal growth hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62:975–979.
367. Skor DA, White NH, Thomas L, Santiago JV. Relative roles of insulin clearance and insulin sensitivity in the prebreakfast increase in insulin requirements in insulin-dependent diabetic patients. *Diabetes* 1984; 33:60–63.
368. Izzo J. Diurnal (24-hour) rhythm in diabetes mellitus: diurnal variations in levels of glucose in blood and urine. *Proc Am Diabetes Assoc* 1949; 9:247–273.
369. Jarrett R, Baker I, Keen H, Oakley N. Diurnal variation in oral glucose tolerance: blood sugar and plasma insulin levels morning, afternoon and evening. *Br Med J* 1972; 1:199–201.
370. DeFeo P, Periello G, Ventura MM, Calcinaro F, Basta G, Lilli C, Cruciani C, Dell'Olio A, Santeusano F, Brunetti P, Bolli GB. Studies on overnight insulin requirements and metabolic clearance rate of insulin in normal and diabetic man: relevance to the pathogenesis of the dawn phenomenon. *Diabetologia* 1986; 29:475–480.
371. Kerner W, Navasqués I, Torres AA, Pfeiffer EF. Studies on the pathogenesis of the dawn phenomenon in insulin-dependent diabetic patients. *Metabolism* 1984; 33:458–464.
372. Campbell PJ, Gerich JE. Occurrence of dawn phenomenon without change in insulin clearance on patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 1986; 35:749–752.
373. Schmidt M, Hadji-Georgopoulos A, Rendell M, Margolis S, Kowarski D, Kowarski AA. Fasting hyperglycemia and associated free insulin and cortisol changes in 'Somogyi-like' patients. *Diabetes Care* 1979; 2:457–464.
374. Geffner ME, Frank H, Kaplan SA, Lippe BM, Levin SR. Early-morning hyperglycemia in diabetic individuals treated with continuous subcutaneous insulin infusion. *Diabetes Care* 1983; 6:135–139.
375. Komjati M, Breitenacker F, Bratusch-Marrain P, Gampe J, Vierhapper H, Troch I, Waldhäusl W. Contribution by the glycogen pool and adenosine 3'5'-monophosphate release to the evanescent effect of glucagon on hepatic glucose production in vitro. *Endocrinology* 1985; 116:978–986.
376. Waldhäusl WK. The physiological basis of insulin treatment – clinical aspects ( 18th Claude Bernard Lecture of the European Association for the Study of Diabetes delivered in Rome, Italy, 20 September 1986).
377. Bolli G, Gerich JE. The dawn phenomenon, a common occurrence in both non-insulin-dependent and insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1984; 310:1706–1711.
378. Bolli G, DeFeo P, DeCosmo S, Periello G, Ventura M, Calcinaro F, Colli C, Campbell P, Brunetti P, Gerich J. Demonstration of the dawn phenomenon in normal volunteers. *Diabetes* 1984; 33:1150–1153.
379. Woodward GE, Hudson MT. The effect of 2-deoxy-d-glucose on glycolysis and respiration of tumor and normal tissues. *Cancer Res* 1954; 14:599–605.
380. Brodows RG, Pi-Sunyer FX, Campbell RG. Neural control of counterregulatory events during glucopenia in man. *J Clin Invest* 1973; 52:1841–1844.
381. DeFronzo RA, Andres R, Bledsoe TA, et al. A test of the hypothesis that the rate of fall in glucose concentration triggers counterregulatory hormonal responses in man. *Diabetes* 1977; 26:445–452.
382. Cryer PE. Glucose counterregulation in man. *Diabetes* 1981; 30:261–264.
383. Editorial. Hypoglycemia and the nervous system. *Lancet* 1985; ii:759–760.
384. Boyle PJ, Schwartz NS, Shah SD, Clutter WE, Cryer PE. Glycemic thresholds for hypoglycemic symptoms are elevated in patients with poorly controlled insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 1987 (suppl. 1); 36:3A (abstract).
385. Sharp PS, Mohan V, Maneschi F, Vitelli F, Cloke HR, Burrin JM, Kohner EM. Changes in plasma growth hormone in diabetic and nondiabetic subjects during the glucose clamp. *Metabolism* 1987; 36:71–75.



386. Gundersen HJG, Christensen NJ. Intravenous insulin causing loss of intravascular water and albumin and increased adrenergic nervous activity in diabetics. *Diabetes* 1977; 26:551–557.
387. DeFronzo RA, Hendler R, Christensen N. Stimulation of counterregulatory hormonal responses in diabetic man by a fall in glucose concentration. *Diabetes* 1980; 29:125–131.
388. Lilavivathana U, Brodows RG, Woolf PD, Campbell RG. Counterregulatory hormonal responses to rapid glucose lowering in diabetic man. *Diabetes* 1979; 28:873–877.
389. Sönksen PH, Srivastava MC, Tompkins CV, Nabarro JDN. Growth hormone and cortisol responses to insulin infusions in patients with diabetes mellitus. *Lancet* 1972; 2:155–160.
390. Gjedde A, Crone C. Blood–brain glucose transfer: repression in chronic hyperglycemia. *Science* 1981; 214:456–457.
391. McCall AL, Millington W, Wurtman RJ. Metabolic fuel and amino acid transport across the blood–brain barrier in experimental diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci* 1982; 79:5406–5410.
392. McCall AL, Fixman LB, Fleming N, Tornheim K, Chick W, Ruderman NB. Chronic hypoglycemia increases brain glucose transport. *Am J Physiol* 1986; 251:E442–E447.
393. Mathei S, Horuk R, Olefsky JM. Blood–brain glucose transfer in diabetes mellitus. Decreased number of glucose transporters at blood–brain barrier. *Diabetes* 1986; 35:1181–1184.
394. Marks V. In: *Hypoglycemia*, edited by V. Marks and C.F. Rose. 2 nd. ed. Oxford, UK, Blackwell, 1981, p. 115–157.
395. Owen OE, Morgan AP, Kemp HG, Sullivan JM, Herrera H, Cahill Jr. GF. Brain metabolism during fasting. *J Clin Invest* 1967; 46:1589–1595.
396. Gjedde A, Crone C. Induction processes in blood–brain transfer of ketone bodies during starvation. *Am J Physiol* 1975; 229:1165–1169.
397. Siesjö BK. Utilization of substrates by brain tissues. In: *Brain energy metabolism*. New York: Wiley, 1978, p. 101–130.
398. Hirsch B, Shamoon H. Defective epinephrine and growth hormone in type I diabetes are stimulus specific. *Diabetes* 1987; 36:20–26.
399. Amiel SA, Tamborlane WV, Sherwin RS. Multiple defects in glucose counterregulation in intensively treated diabetic patients. *Diabetes* 1985; 34 (suppl 1):47A.
400. Bolli G, DeFeo P, DeCosmo S, Periello G, Angeletti G, Ventura MR, Santeusano F, Brunetti P, Gerich JE. Effects of long term optimization and short-term deterioration of glycemic control on glucose counterregulation in type I diabetes mellitus. *Diabetes* 1984; 33:394–400.
401. Schwartz NS, Clutter WE, Shah SD, Cryer PE. Glycemic thresholds for activation of glucose counterregulatory systems are higher than the threshold for symptoms. *J Clin Invest* 1987; 79:777–781.
402. Lager I, Jagenburg R, von Schenk H, Smith U. Effect of beta-blockade on hormone release during hypoglycemia in insulin-dependent diabetics. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1980; 95:364–371.
403. Gerich JE, Langlois M, Noacco C, Karam JH, Forsham PH. Lack of glucagon response to hypoglycemia in diabetes: evidence for an intrinsic pancreatic alpha cell defect. *Science* 1973; 182:171–173.
404. Benson JW, Johnson DG, Palmer J, Werner PL, Ensink JW. Glucagon and catecholamine secretion during hypoglycaemia in normal and diabetic man. *J Clin Endocrinol Metab* 1977; 44:459–464.
405. Campbell LW, Kreagen EW, Lazarus L. Defective blood glucose counterregulation in diabetics is a selective form of autonomic neuropathy. *Br Med J* 1977; 2:1557–1529.
406. Madsbad S, Hilsted J, Krarup R, Sesoft L, Christensen NJ, Faber OK, Tronier B. Hormonal, metabolic and cardiovascular responses to hypoglycemia in type I (insulin-dependent) diabetes with and without residual B cell function. *Diabetologia* 1982; 23:499–503.
407. Kleinbaum J, Shamoon H. Impaired counterregulation of hypoglycemia in insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 1983; 32:493–498.

408. Bratusch-Marrain P. Insulin counteracting hormones: their impact on glucose metabolism. *Diabetologia* 1983; 24:74–79.
409. Bolli G, DeFeo P, Compagnucci P, Cartechini MG, Angeletti G, Santeusano F, Brunetti P, Gerich JE. Abnormal glucose counterregulation in insulin-dependent diabetes mellitus: interaction of anti-insulin antibodies and impaired glucagon and epinephrine secretion. *Diabetes* 1983; 32:134–141.
410. Polonsky KS, Herold KC, Gilden JL, Bergenstal RM, Fang VS, Moossa AR, Jaspan JB. Glucose counterregulation in patients after pancreatectomy. Comparison with other clinical forms of diabetes. *Diabetes* 1984; 33:1112–1119.
411. Patel DG. Lack of glucagon response to hypoglycemia in long-term experimental diabetic rats. *Diabetes* 1983; 32:55–60.
412. Bolli G, DeFeo P, Compagnucci P, Cartechini MG, Angeletti G, Santeusano F, Brunetti P. Important role of adrenergic mechanisms in acute glucose counterregulation following insulin-induced hypoglycemia in type I diabetes: evidence for an effect mediated by beta-adrenoceptors. *Diabetes* 1982; 31:641–647.
413. Polonsky K, Bergenstal R, Pons G, Schneider M, Jaspan J, Rubenstein A. Relation of counterregulatory responses to hypoglycemia in type I diabetics. *N Engl J Med* 1982; 307:1106–1112.
414. Cryer PE, Gerich JE. Relevance of glucose counterregulatory systems to patients with diabetes: critical roles of glucagon and epinephrine. *Diabetes Care* 1983; 6:95–99.
415. Horie H, Matsuyama T, Namba M, Itoh H, Nonaka K, Tarui S, Yamatodani A, Wada H. Responses of catecholamines and other counterregulatory hormones to insulin-induced hypoglycemia in totally pancreatectomized patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 59:1193–1196.
416. Lager I, von Schenk H, Smith U. Improved but not normalized glucose counter-regulation during glucagon infusion in type I (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 1984; 26:337–342.
417. Gerich J, Cryer P, Rizza R. Hormonal mechanisms in acute glucose counterregulation: the relative roles of glucagon, epinephrine, norepinephrine, growth hormone and cortisol. *Metabolism* 1980; 29:1164–1175.
418. Gerich J, Davis J, Lorenzi M, et al. Hormonal mechanisms of recovery from insulin-induced hypoglycemia in man. *Am J Physiol* 1979; 236:77–82.
419. Cryer PE. Hypoglycemic glucose counterregulation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Lab Clin Med* 1982; 99:451–456.
420. Boden G, Reichard Jr. GA, Hoeldtke RD, Rezvani I, Owen OE. Severe insulin-induced hypoglycemia associated with deficiencies in the release of counterregulatory hormones. *N Engl J Med* 1981; 305:1200–1205.
421. McKenzie RG, Luboshitsky RL, Goldman J, Trulson M, Jacoby JH. Plasma amino acid levels, brain tryptophan uptake and brain 5HT synthesis in diabetic rats. *Soc Neurosci* 1981 Abstr 229:15.
422. Hilsted J, Madsbad S, Krarup T, Sestoft L, Christensen NJ, Tronier B, Galbo H. Hormonal, metabolic, and cardiovascular responses to hypoglycemia in diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes* 1981; 30:626–633.
423. Horie H, Hanafusa T, Matsuyama T, Namba M, Konaka K, Tarui S, Yamatodani A, Wada H. Decreased response of epinephrine and norepinephrine to insulin-induced hypoglycemia in diabetic autonomic neuropathy. *Horm metab Res* 1984; 16:398–401.
424. Hoeldtke RD, Boden G, Shuman CR, Owen OE. Reduced epinephrine-mediated  $\beta$ -adrenergic mechanisms in hypoglycemic glucose counterregulation and post hypoglycemic hyperglycemia in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1982; 69:315–326.
425. Hilsted J, Madsbad S, Krarup T. Hormonal, metabolic, and cardiovascular responses to hypoglycemia in diabetic autonomic neuropathy. *Br Med J* 1977; 2:1527–1529.
426. White NH, Skor D, Cryer PE, Bier DM, Levandoski L, Santiago JV. Identification of type I diabetic patients at increased risk for hypoglycemia during intensive therapy. *N Engl J Med* 1983; 308:485–491.

427. Popp DA, Shah SD, Cryer PE. Role of epinephrine-mediated  $\beta$ -adrenergic mechanisms in hypoglycemic glucose counterregulation and posthypoglycemic hyperglycemia in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1982; 69:315-326.
428. Bolli G, Calabrese G, DeFeo P, et al. Lack of glucagon response in glucose counter-regulation in type I (insulin-dependent) diabetics: absence of recovery after prolonged optimal insulin therapy. *Diabetologia* 1982; 22:100-105.
429. Gerich JE, Langlois M, Noacco C, Karam JH, Forsham PH. Lack of glucagon response to hypoglycemia in diabetes: evidence for an intrinsic pancreatic alpha cell defect. *Science* 1973; 182:171-173.
430. Clarke WL, Santiago JV, Thomas L, Ben-Galim E, Haymond MW, Cryer PE. Adrenergic mechanisms in recovery from hypoglycemia in man: adrenergic blockade. *Am J Physiol* 1979; 236:E147-E152.
431. Lilavivat U, Brodows RG, Campbell RG. Adrenergic influence on glucocounterregulation in man. *Diabetologia* 1981; 20:482-488.
432. Unger RH. Glucagon physiology and pathophysiology in the light of new advances. *Diabetologia* 1985; 28:574-578.
433. Hilsted J, Madsbad S, Krarup T, Tronier B, Galbo H, Sestoft L, Schwartz TW. No response of pancreatic hormones to hypoglycemia in diabetic autonomic neuropathy. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54:815-819.
434. Maher TD, Tanenberg RJ, Greenberg BZ, Hoffman JE, Doe RP, Gerts FC. Lack of glucagon response to hypoglycemia in diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes* 1977; 26:196-200.
435. Bloom SR, Vaigan NJA, Russell RCG. Vagal control of glucagon release in man. *Lancet* 1974; 2:546-549.
436. Müller WA, Faloona GR, Unger RH. Hyperglucagonemia in diabetic ketoacidosis: its prevalence and significance. *Am J Med* 1973; 54:52-57.
437. Boden G, Soriano M, Hoeldtke RD, Owen OE. Counterregulatory hormone release and glucose recovery after hypoglycemia in non-insulin-dependent diabetic patients. *Diabetes* 1983; 32:1055-1059.
438. Bolli GM, Dimitriadis GD, Pehling GB, Baker BA, Haymond MW, Cryer PE, Gerich JE. Abnormal glucose counterregulation after subcutaneous insulin in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1984; 310:1706-1711.
439. DeFeo P, Periello G, DeCosmo S, Ventura MM, Campbell PJ, Brunetti P, Gerich JE, Bolli GB. Comparison of glucose counterregulation during short-term and prolonged hypoglycemia in normal humans. *Diabetes* 1986; 35:563-569.
440. Gauthier C, Hetenyi G. Origin of glucose released in regulatory response against hypoglycemia. *Metabolism* 1982; 31:147-153.
441. Cherrington A, Williams P, Shulman G, Lacy W. Differential time course of glucagon's effect on glycogenolysis and gluconeogenesis in the conscious dog. *Diabetes* 1981; 30:180-187.
442. Saccà L, Vigorito C, Cicala M, Corso G, Sherwin R. Role of gluconeogenesis in epinephrine-stimulated hepatic glucose production in humans. *Am J Physiol* 1983; 245:E294-E302.
443. Eigler N, Sacca L, Sherwin R. Synergistic interactions of physiologic increments of glucagon, epinephrine, and cortisol in the dog: a model for stress-induced hyperglycemia. *J Clin Invest* 1979; 63:114-123.
444. Bolli GB, DeFeo P, DeCosmo S, Periello G, Ventura MM, Massi Benedetti M, Santeusano F, Gerich JE, Brunetti P. A reliable and reproducible test for adequate glucose counterregulation in type I diabetes mellitus. *Diabetes* 1984; 33:732-737.
445. White NH, Gingerich RL, Levandoski LA, Cryer PE, Santiago JV. Plasma pancreatic polypeptide response to insulin-induced hypoglycemia as a marker for defective glucose counterregulation in insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 1985; 34:870-875.
446. Kennedy F, Smith L, Go V, Cryer P, Gerich J. The secretin stimulation test: A new procedure to detect counterregulatory hormone responses to hypoglycemia in type I diabetes mellitus. *Clin Res* 1987; 35:928A.



447. Houssay BA, Penhos JC. Diabetogenic action of pituitary hormones on adrenalectomized dogs. *Endocrinology* 1956; 59:637–641.
448. Mintz DH, Finster JL, Taylor AL, Fefer A. Hormonal genesis of glucose intolerance following hyperglycemia. *Am J Med* 1968; 45:187–197.
449. Oakley NW, Jacobs HS, Turner RC, Williams J, Aquino CS, Nabarro JDN. The effect of hypoglycemia on oral glucose tolerance in normal subjects and patients with pituitary and adrenal disorders. *Clin Sci* 1970; 39:663–674.
450. Gerich J, Lorenzi M, Bier D, Schneider V, Tsalikian E, Karam J, Forsham P. Prevention of human diabetic ketoacidosis by somatostatin: Evidence for an essential role of glucagon. *N Engl J Med* 1975; 292:985–989.
451. Barnes AJ, Kohner EM, Bloom SR. Importance of pituitary hormones in aetiology of diabetic ketoacidosis. *Lancet* 1978; 1:1171–1174.
452. Reitsma WD. Groeihormoon, vetstofwisseling en energievoorziening. *Acad. Proefschr. Groningen* 1963.
453. Sherwin RS, Shamoon H, Hendler R, Sacca L, Eigler N, Walesky M. Epinephrine and the regulation of glucose metabolism: effect of diabetes and hormonal interactions. *Metabolism* 1980; 29:1146–1154.
454. Ellis S. The metabolic effects of epinephrine and related amines. *Pharmacol Rev* 1965; 8:485–562.
455. Rizza R, Haymond M, Cryer P, Gerich J. Differential effects of epinephrine on glucose production and disposal in man. *Am J Physiol* 1979; 237:E356–E362.
456. Rizza R, Cryer P, Haymond M, Gerich J. Adrenergic mechanisms of epinephrine on glucose production and clearance in man. *J Clin Invest* 1980; 65:682–689.
457. Rizza R, Lawrence J, Mandarino L, Gerich J. Effects of growth hormone on insulin action in man: mechanisms of insulin resistance, impaired suppression of glucose production and impaired stimulation of glucose utilization. *Diabetes* 1982; 31:663–669.
458. Rizza R, Mandarino L, Gerich J. Cortisol-induced insulin resistance in man: impaired suppression of glucose production and stimulation of glucose utilization due to a postreceptor defect in insulin action. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54:131–138.
459. Smythe GA, Bradshaw JE, Nicholson MV, Grunstein HS, Storlien LH. Rapid bidirectional effects of insulin on hypothalamic, noradrenergic and serotonergic neuronal activity in the rat: Role in glucose homeostasis. *Endocrinology* 1985; 117:1590–1597.
460. Grunstein HS, James DE, Storlien LH, Smythe GA, Kraegen EW. Hyperinsulinemia suppresses glucose utilisation in specific brain regions: In vivo studies using the euglycemic clamp in the rat. *Endocrinology* 1985; 116:604–610.
461. Himsworth RL, Carmel PW, Frantz AG. The location of the chemoreceptor controlling growth hormone secretion during hypoglycemia in primates. *Endocrinology* 1979; 91:217–226.
462. Van Houten M, Posner BI, Kopriva BM, Brawer JR. Insulin binding sites in the rat brain: In vivo localisation to the circumventricular organs. *Endocrinology* 1979; 105:666–673.
463. Grecu EO, Walter RM. Human growth hormone response to a fall in plasma glucose concentration in normal and diabetic subjects. *Diabetologia* 1983; 24:136–137.
464. Santiago JV, Clarke WL, Shah SD, Cryer PE. Epinephrine, norepinephrine, glucagon and growth hormone release in association with physiological decrements in plasma glucose concentration in normal and diabetic man. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51:877–883.
465. Edwards J, Taylor K. Fatty acids and the release of glucagon from isolated guinea pig islets of Langerhans incubated in vitro. *Biochim Biophys Acta* 1970; 215:310–315.
466. Luyckx A, Lefebvre P. Arguments for regulation of pancreatic glucagon secretion by circulating plasma free fatty acids. *Proc Soc Exp Biol Med* 1970; 133:524–528.
467. Blackard W, Hull E, Lopez S. Effects of lipids on growth hormone secretion in humans. *J Clin Invest* 1971; 50:1439–1443.
468. Hans-Jürgen Q, Trompke M, Luyckx A. Influence of ketone body infusion on plasma growth hormone and glucagon in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 57:613–618.
469. Flatt J, Blackburn G, Randers G, Stanbury J. Effect of ketone body infusion on hypoglycemia reaction in postabsorptive dogs. *Metabolism* 1974; 23:151–158.

470. Müller W, Aoki T, Flatt J, Blackburn G, Egdahl R, Cahill G. Effect of beta-hydroxybutyrate, glycerol and free fatty acid infusion on glucagon and epinephrine secretion in dogs during acute hypoglycemia. *Metabolism* 1976; 25:1077-1086.
471. Herrera MG, Kamm D, Ruderman N, Cahill Jr. GF. Nonhormonal factors in the control of gluconeogenesis. *Adv Enzyme Regul* 1966; 4:225-235.
472. Bratusch-Marrain P, Waldhäusl W, Grubeck-Loebenstien B, Korn A, Vierhapper H, Nowotny P. The role of "diabetogenic" hormones on carbohydrate and lipid metabolism following oral glucose loading in insulin dependent diabetics: effects of acute hormone administration. *Diabetologia* 1981; 21:387-393.
473. Buchanan KD, Mawhinney WA. Insulin control of glucagon release from insulin-deficient rat islets. *Diabetes* 1973; 22:801-803.
474. Lager I, von Schenk H, Smith U. Glucagon release and glucose counter-regulation during hypoglycaemia. Modifying effect of the previous glucose level. *Acta Endocrinol (Kopenh)* 1985; 110:107-113.
475. Starke A, Grundy S, McGarry JD, Unger RH. Correction of hyperglycemia with phloridzin restores the glucagon response to glucose in insulin-dependent dogs: implications for human diabetes. *Proc Natl Acad Sci* 1985; 82:1544-1546.
476. Asplin CM, Paquette TL, Palmer JP. In vivo inhibition of glucagon secretion by paracrine beta cell activity in man. *J Clin Invest* 1981; 68:314-318.
477. Asplin CM, Raghu P, Dorman T, Palmer JP. Independent action of glucose on pancreatic A cell in vivo. *Metabolism* 1983; 32:292-295.
478. Tse TF, Clutter WE, Shah SD, Cryer PE. Mechanisms of postprandial glucose counterregulation in man. Physiologic roles of glucagon and epinephrine vis-a-vis insulin in the prevention of hypoglycemia late after glucose ingestion. *J Clin Invest* 1983; 72:278-286.
479. Asplin CM, Hollander PM, Palmer JP. How does glucose regulate the human pancreatic A cell in vivo? *Diabetologia* 1984; 26:203-207.
480. Starke A, Imamura T, Unger R. Relationship of glucagon suppression and somatostatin to the ambient glucose concentration. *J Clin Invest* 1987; 79:20-24.
481. Gerich J, Langlois M, Noacco C, Lorenzi M, Karam J, Forsham P. Comparison of suppressive effects of hyperglycemia and elevation of plasma free fatty acid levels on glucagon secretion in normal and insulin-dependent subjects: Evidence for selective alpha cell sensitivity to glucose in diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1976; 58:320-325.
482. Dimitriadis G, Cryer P, Gerich J. Prolonged hyperglycemia during infusion of glucose and somatostatin impairs pancreatic A- and B-cell responses to decrements in plasma glucose in normal man: evidence for induction of altered sensitivity to glucose. *Diabetologia* 1985; 28:63-69.
483. Müller WA, Faloona GR, Unger RH. The effect of experimental insulin deficiency in glucagon secretion. *J Clin Invest* 1971; 50:1992-1999.
484. Unger RH, Orci L. Glucagon and the A cell: physiology and pathophysiology. *N Engl J Med* 1981; 304:1518-1524, 1575-1580 (two parts).
485. Shichiri M, Kawamori R, Abe H. Normalization of the paradoxical secretion of glucagon in diabetics who were controlled by the artificial beta cell. *Diabetes* 1979; 28:272-275.
486. Unger R, Madison L, Muller W. Abnormal alpha cell function in diabetes: response to insulin. *Diabetes* 1972; 21:224-234.
487. Braaten JT, Faloona GR, Unger RH. The effect of insulin on the alpha-cell response to hyperglycemia in long standing alloxan diabetes. *J Clin Invest* 1974; 53:1017-1021.
488. Palmer J, Benson J, Walter R, Ensink J. Arginine-stimulated acute phase of insulin and glucagon secretion in diabetic subjects. *J Clin Invest* 1976; 58:565-570.
489. Unger R, Aguilar-Parada E, Muller W, Eisentraut A. Studies of pancreatic alpha cell function in normal and diabetic subjects. *J Clin Invest* 1970; 49:837-848.
490. Kawamori R, Shichiri M, Kikuchi M, Yamasaki Y, Abe H. Perfect normalization of excessive glucagon responses to intravenous arginine in human diabetes mellitus with the artificial beta-cell. *Diabetes* 1980; 29:762-765.
491. Felig P, Wahren J, Hendler R. Influence of physiologic hyperglucagonemia on basal and insulin-inhibited splanchnic glucose output in normal man. *J Clin Invest* 1976; 58:761-765.

492. Bomboy JD, Lewis SB, Lacy WW, Sinclair-Smith BC, Liljenquist JE. Transient stimulatory effect of sustained hyperglucagonemia on splanchnic glucose production in normal and diabetic man. *Diabetes* 1977; 26:177–184.
493. Bajorunas DR, Dresler CM, Horowitz GD, McDermott K, Jevanandam M, Fortner JG, Brennan MF. Basal glucagon replacement in chronic glucagon deficiency increases insulin resistance. *Diabetes* 1986; 35:556–562.
494. Gerich J, Lorenzi M, Bier D, Tsalikian E, Karam J, Forsham P. Effects of physiologic levels of glucagon and growth hormone on human carbohydrate and lipid metabolism. *J Clin Invest* 1976; 57:875–884.
495. Raskin P, Unger RH. Effects of exogenous hyperglucagonemia in insulin-treated diabetics. *Diabetes* 1977; 26:1034–1039.
496. Gerich JE, Langlois M, Noacco C, Schneider V, Forsham PH. Adrenergic modulation of pancreatic glucagon secretion in man. *J Clin Invest* 1974; 53:1441–1446.
497. Iversen J. Adrenergic receptors and the secretion of glucagon and insulin in the isolated, perfused canine pancreas. *J Clin Invest* 1971; 50:1069–1078.
498. Nadeau A, Rousseau-Migneron S, Tancrède G, Jobidon C, Trudel D. Diminished glucagon response to epinephrine in physically trained diabetic rats. *Diabetes* 1985; 34:1278–1282.
499. Arner P, Engfeldt P, Novak J. In vivo observations on the lipolytic effect of noradrenaline during therapeutic fasting. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 53:1207–1212.
500. Clutter WE, Bier DM, Shah SD, Cryer PE. Epinephrine plasma metabolic clearance rates and physiologic thresholds for metabolic and hemodynamic actions in man. *J Clin Invest* 1980; 66:94–101.
501. Schade DS, Eaton RP. The regulation of plasma ketone body concentration by counter-regulatory hormones in man. III. Effects of norepinephrine in normal man. *Diabetes* 1979; 28:5–10.
502. Shah SD, Tse TF, Clutter WE, Cryer PE. The human sympathochromaffin system. *Am J Physiol* 1984; 247:E380–E384.
503. Brodows RG, Pi-Sunyer FX, Campbell RG. Sympathetic control of hepatic glycogenolysis during glucopenia in man. *Metabolism* 1975; 24:617–624.
504. Wallin BG, Sundlof G, Erikson B-M, Dominiak P, Grobecker H, Lindblad LE. Plasma noradrenaline correlates to sympathetic muscle nerve activity in normotensive man. *Acta Physiol Scand* 1981; 111:69–73.
505. Fagius J, Niklasson F, Berne C. Sympathetic outflow in human muscle nerves increases during hypoglycemia. *Diabetes* 1986; 35:1124–1129.
506. Cherrington AD, Exton JH. Studies on the role of AMP-dependent protein kinase in the actions of glucagon and catecholamines on liver glycogen metabolism. *Metabolism* (Suppl.1) 1964; 25:1351–1354.
507. Sokal JE, Sarcione EJ, Henderson AM. Relative potency of glucagon and epinephrine as hepatic glycogenolytic agents: studies with the isolated perfused rat liver. *Endocrinology* 1964; 74:930–938.
508. Waldhäusl WK, Gasic S, Bratusch-Marrain P, Komjati M, Korn A. Effect of stress hormones on splanchnic substrate and insulin disposal following glucose ingestion in healthy man. *Diabetes* 1987; 36:127–135.
509. Saccà L, Morrone G, Cicala M, Corso G, Ungaro B. Influence of epinephrine, norepinephrine, and isoproterenol on glucose homeostasis in normal man. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 50:680–684.
510. Hoelzer DR, Dalsky GP, Schwartz NS, Clutter WE, Shah SD, Holloszy JO, Cryer PE. Epinephrine is not critical to prevention of hypoglycemia during exercise in humans. *Am J Physiol* 1986; 251:E104–E110.
511. Christensen NJ, Galbo H. Sympathetic nervous activity during exercise. *Ann Rev Physiol* 1983; 45:139–153.
512. Gray DE, Lickley HLA, Vranic M. Physiologic effects of epinephrine on glucose turnover and plasma free fatty acid concentrations mediated independently of glucagon. *Diabetes* 1980; 29:600–608.

513. Ferrannini E, Barrett EJ, Bevilacqua S, DeFronzo RA. Effect of fatty acids on glucose production and utilization in man. *J Clin Invest* 1983; 72:1648–1658.
514. Chiasion J-L, Shikama H, Chu DTW, Exton JH. Inhibitory effect of epinephrine on insulin-stimulated glucose uptake by rat skeletal muscle. *J Clin Invest* 1981; 68:706–713.
515. Lager I, Attvall S, Erikson BM, Schenk von H, Smith U. Studies on the insulin-antagonistic effect of catecholamines in normal man. Evidence for the importance of  $\beta_2$  receptors. *Diabetologia* 1986; 29:409–416.
516. Sacca L, Vigorito C, Cicala M, Ungaro B, Sherwin RS. Mechanisms of epinephrine-induced glucose intolerance in normal humans. *J Clin Invest* 1982; 69:284–293.
517. Hendler RG, Sherwin RS. Epinephrine-stimulated glucose production is not diminished by starvation: Evidence for an effect on gluconeogenesis. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 58:1014–1021.
518. Gerich JE, Karam JH, Forsham PH. Stimulation of glucagon secretion by epinephrine in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1973; 37:479–481.
519. Vernikos-Danellis J, Marks BH. Epinephrine-induced release of ACTH in normal human subjects: a test of pituitary function. *Endocrinology* 1962; 70:525–531.
520. Galbo H, Holst JJ, Christensen NJ. Glucagon and plasma catecholamine responses and prolonged exercise in man. *J Appl Physiol* 1975; 38:70–76.
521. Wehrenberg WB, Ling N, Bohlen P, Esch F, Brazeau P, Guillemin R. Physiological roles of somatocrinin and somatostatin in the regulation of growth hormone secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 1982; 109: 562–567.
522. Wass JAH, Penman E, Dryburgh JR et.al. Circulating somatostatin after food and glucose in man. *J Clin Endocrinol* 1980; 12:569–574.
523. Schander P, McIntosh C, Arends J, Arnold R, Frerichs H, Creutzfeldt W. Somatostatin and insulin releasing factor. *Nature* 1983; 303:532–535.
524. Vierhapper H, Grubeck-Loebenstien B, Bratusch-Marrain P, Panzer S, Waldhäusl W. The impact of euglycemia and hyperglycemia on stimulated pituitary hormone release in insulin-dependent diabetics. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 52:1230–1234.
525. Lawrence AM, Kirsteins L. Progestins in the medical management of active acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 1970; 30:646–652.
526. Merimee TJ, Fineberg SE. Studies of the sex based variation of human growth hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1971; 33:896–902.
527. Morente C, Keltzky OA. Pituitary response to insulin-induced hypoglycemia in patients with amenorrhea of different etiologies. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 148:375–380.
528. MacGorman L, Rizza R, Gerich J. Physiologic concentrations of growth hormone exert insulin-like and insulin antagonistic effects on both hepatic and extrahepatic tissues in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 53:556–559.
529. Baxter J, Forsham J. Tissue effects of glucocorticoids. *Am J Med* 1972; 53:573–584.
530. Skor DA, White NH, Thomas L, Santiago JV. Influence of growth hormone on overnight insulin requirements in insulin-dependent diabetes. *Diabetes* 1985; 34:135–139.
531. Gerich JE, Schneider V, Dippe SE, Lanfloi M, Noacco C, Karam JH, Forsham PH. Characterization of the glucagon response to hypoglycemia in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1974; 38:77–82.
532. Bratusch-Marrain PR, Smith D, DeFronzo RA. The effect of growth hormone on glucose metabolism and insulin secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 55:973–982.
533. Sherwin RS, Schulman GA, Hendler R, Walesky M, Belous A, Tamborlane W. Effect of growth hormone on oral glucose tolerance and circulating metabolic fuels in man. *Diabetologia* 1983; 24:155–161.
534. MacFarlane IA, Stafford S, Wright AD. Circulating growth hormone forms in type I diabetic subjects: comparison with normal subjects and acromegalics. *Acta Endocrinol* 1986; 112:547–551.
535. Vigneri R, Squatrito S, Pezzino V, Filetti S, Branca S, Polosa P. Growth hormone levels in diabetes. Correlation with the clinical control of the disease. *Diabetes* 1976; 25:167–172.
536. Hansen AP, Johansen K. Diurnal patterns of blood glucose, serum free fatty acids, insulin, glucagon and growth hormone in normals and juvenile diabetics. *Diabetologia* 1970; 6:27–33.



537. Molnar GD, Taylor WF, Langworthy A, Fatourech V. Diurnal growth hormone and glucose abnormalities in unstable diabetics. *J Clin Endocrinol Metab* 1972; 34:837-846.
538. Tamborlane WV, Sherwin RS, Koivisto V, Hendler R, Genel M, Felig P. Normalization of growth hormone and catecholamine response to exercise in juvenile-onset diabetic subjects treated with a portable insulin infusion pump. *Diabetes* 1979; 28:785-788.
539. Alberti KGMM, Christensen NJ, Iversen J, Orskov H. The role of glucagon and other hormones in the development of diabetic ketoacidosis. *Lancet* 1975; 1:1307-1311.
540. Passa P, Gauville C, Canivet J. Influences of muscle exercise on plasma level of growth hormone in diabetics with and without retinopathy. *Lancet* 1974; 2:72-74.
541. Merimee TJ, Fitzgerald CR, Gold LA, McCourt JP. Characteristics of growth hormone secretion in clinically stable diabetes. *Diabetes* 1979; 28:308-312.
542. Yde H. Abnormal growth hormone response to ingestion of glucose in juvenile diabetics. *Acta Med Scand* 1969; 186:449-504.
543. Hansen AP. The effect of intravenous glucose infusion on exercise-induced serum growth hormone rise in normals and juvenile diabetics. *Scand J Clin Lab Invest* 1971; 28:195-205.
544. Ward FR, Leblanc H, Yen SSC. The inhibitory effect of somatostatin on growth hormone, insulin and glucagon secretion in diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1975; 41:527-532.
545. Burday SZ, Fine PH, Schalch DS. Growth hormone secretion in response to arginine infusion in normal and diabetic subjects: relationship to blood glucose levels. *J Lab Clin Med* 1968; 71:897-911.
546. Lorenzi M, Karam J, McIlroy M, Forsham PH. Increased growth hormone response to dopamine infusion in insulin dependent diabetic subjects: Indication of possible blood brain barrier abnormality. *J Clin Invest* 1980; 65:146-153.
547. Kjeldsen H, Hansen AP, Lundbaek K. Twenty four hour serum growth hormone levels in maturity onset diabetes. *Diabetes* 1975; 24:977-982.
548. Richards NT, Wood SM, Christofides ND, Bhattacharij SC, Bloom SR. Impaired growth hormone response to human pancreatic growth hormone releasing factor [GRF (1-44)] in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 1984; 27:529-534.
549. Press M, Tamborlane WV, Thomer MO, Vale W, Rivier J, Gertner JM, Sherwin RS. Pituitary response to growth hormone-releasing factor in diabetes. *Diabetes* 1984; 33:804-806.
550. DePirro R, Bertoli A, Fusco A, Testa I, Greco AV, Lauro R. Effect of dexamethasone and cortisol on insulin receptors in normal human male. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51:503-503.
551. Saccà L, Sherwin R, Hendler R, Felig P. Influence of continuous physiologic hyperinsulinemia on glucose kinetics and counterregulatory hormones in normal and diabetic humans. *J Clin Invest* 1979; 63:849-857.
552. Yalow RS en Berson SA. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *J Clin Invest* 1960; 39:1157-1175.
553. Soeldner JS, Slone D. Critical variables in the radioimmunoassay of serum insulin using the double antibody technic. *Diabetes* 1965; 14:771-779.
554. Heding LG. Radioimmunological determination of human C-peptide in serum. *Diabetologia* 1975; 11:541-548.
555. Hoekstra JBL. C-Peptide, clinical and biochemical studies. *Acad. Proefschrift Rijks Universiteit Utrecht*. 1982:41-42.
556. Orskov H, Thomsen HG, Yde H. Wick P. Chromatography for the rapid and reliable radioassay of insulin, glucagon and growth hormone. *Nature* 1968; 219:193-195.
557. Heding LG. Radioimmunological determination of pancreatic and gut glucagon in plasma. *Diabetologia* 1971; 7:10-19.
558. Pratt JJ. Steroidal immunoassay in clinical chemistry. *Clin. Chem.* 1978; 24:1869-1890.
559. Smedes F, Kraak JC, Poppe H. Simple and fast solvent extraction system for selective and quantitative isolation of adrenaline, noradrenaline and dopamine from plasma and urine. *J Chromatogr* 1982; 231:25-39.

560. Mosinger F. Photometric adaptation of Dole's microdetermination of free fatty acids. *J Lipid Res* 1965; 6:157–159.
561. *Wissenschaftliche tabellen*. Ed. Diem K, Lentner C. 7 aufl. Ciba Geigy AG, Basel 1968.